

백서에서 신경압박 손상에 의해 유발된 과민반응에서 척추 및 말초 GABA-A와 B 수용체 작용제에 의한 완화효과

연세대학교 의과대학 ¹생리학교실, ²마취통증의학교실, ³뇌연구소, ⁴BK21 의과학사업단

전영훈^{1,4} · 윤덕미^{2,3} · 남택상^{1,3,4} · 임중우^{1,3,4} · 백광세^{1,3}

= Abstract =

Spinal and Peripheral GABA-A and B Receptor Agonists for the Alleviation of Mechanical Hypersensitivity following Compressive Nerve Injury in the Rat

Young Hoon Jeon, M.S.^{1,4}, Duck Mi Yoon, M.D., Ph.D.^{2,3}, Taick Sang Nam, M.D., Ph.D.^{1,3,4},
Joong Woo Leem, Ph.D.^{1,3,4}, and Gwang Se Paik, M.D., Ph.D.^{1,3}

Departments of ¹Physiology and ²Anesthesiology & Pain Medicine, ³The Brain Research Institute,
and ⁴The Brain Korea 21 Project for Medical Science, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: This study was conducted to investigate the roles of the spinal and peripheral γ -aminobutyric acid (GABA)-ergic systems for the mechanical hypersensitivity produced by chronic compression of the dorsal root ganglion (CCD).

Methods: CCD was performed at the left 5th lumbar dorsal root ganglion. The paw withdrawal threshold (PWT) to von Frey stimuli was measured. The mechanical responsiveness of the lumbar dorsal horn neurons was examined. GABAergic drugs were delivered with intrathecal (i.t.) or intraplantar (i.pl.) injection or by topical application onto the spinal cord.

Results: CCD produced mechanical hypersensitivity, which was evidenced by the decrease of the PWT, and it lasting for 10 weeks. For the rats showing mechanical hypersensitivity, the mechanical responsiveness of the lumbar dorsal horn neurons was enhanced. A similar increase was observed with the normal lumbar dorsal horn neurons when the GABA-A receptor antagonist bicuculline was topically applied. An i.t. injection of GABA-A or GABA-B receptor agonist, muscimol or baclofen, alleviated the CCD-induced hypersensitivity. Topical application of same drugs attenuated the CCD-induced enhanced mechanical responsiveness of the lumbar dorsal horn neurons. CCD-induced hypersensitivity was also improved by low-dose muscimol applied (i.pl.) into the affected hind paw, whereas no effects could be observed with high-dose muscimol or baclofen.

Conclusions: The results suggest that the neuropathic pain associated with compression of the dorsal root ganglion is caused by hyperexcitability of the dorsal horn neurons due to a loss of spinal GABAergic inhibition. Peripheral application of low-dose GABA-A receptor agonist can be useful to treat this pain. (Korean J Pain 2006; 19: 22-32)

Key Words: back pain, compression of dorsal root ganglion, compressive neuropathy, GABA receptor, mechanical hyperalgesia.

서 론

신경 손상은 신경병증과 이에 수반하는 통증을 초래한다. 이러한 신경병증통증의 특징적인 증상으로는 특별한 자극을 주지 않았음에도 지속적이고 비정상적인 타는 듯한 자발통, 기계적 또는 높은 온도의 유해자극을 가했을 때 정상에 비해 통증을 강하게 느끼는 통각과민, 비유해성 기계적 또는 열자극에 대해서도 통증으로 인식하는 이질통증 등이 있다.¹⁾ 임상에서 신경병증통증 환자 중 신경병증 관련 경부요통(neuropathy-involved neck and low back pain) 환자가 60% 이상을 차지하는 것으로 보고하고 있다.²⁾ 이들 신경병증 관련 요통 환자는 그 통증의 정도가 매우 심하여 일상생활 유지에 심각한 문제점을 갖고 있는바 즉각적으로 치료되어야 함에도 불구하고 그렇지 못함이 현실이다. 이는 이 질병의 발병 기전에 관한 정보가 매우 미약하기 때문이다.³⁾

는 열자극에 대해서도 통증으로 인식하는 이질통증 등이 있다.¹⁾ 임상에서 신경병증통증 환자 중 신경병증 관련 경부요통(neuropathy-involved neck and low back pain) 환자가 60% 이상을 차지하는 것으로 보고하고 있다.²⁾ 이들 신경병증 관련 요통 환자는 그 통증의 정도가 매우 심하여 일상생활 유지에 심각한 문제점을 갖고 있는바 즉각적으로 치료되어야 함에도 불구하고 그렇지 못함이 현실이다. 이는 이 질병의 발병 기전에 관한 정보가 매우 미약하기 때문이다.³⁾

접수일 : 2006년 1월 19일, 승인일 : 2006년 3월 31일

책임저자 : 임중우, (120-752) 서울시 서대문구 신촌동 134, 연세대학교 의과대학 생리학교실

Tel: 02-2228-1709, Fax: 02-393-0203, E-mail: jwleem@yumc.yonsei.ac.kr

본 연구는 연세대학교 의과대학 교수연구비(6-2004-1085) 지원으로 수행되었음.

Received January 19, 2006, Accepted March 31, 2006

Correspondence to: Joong Woo Leem, Department of Physiology, Yonsei University College of Medicine, 134 Sinchon-dong, Seodaemun-gu,

Seoul 120-752, Korea. Tel: +82-2-2228-1709, Fax: +82-2-393-0203, E-mail: jwleem@yumc.yonsei.ac.kr

This study was supported by a faculty research grant of Yonsei University College of Medicine for 2004 (No. 2004-1085).

신경병증 관련 요통의 주된 원인으로는 후근신경절 및 신경근의 압박이 있는데, 이러한 압박은 요부의 추간판탈출증(herniation of nucleus pulposus)이나 추간공협착증(intervertebral foramen stenosis)에 의하여 이루어진다고 알려졌다. 신경의 압박에 의한 압박신경병증 이외에 외상에 의한 외상신경병증(tramatic neuropathy) 역시 통증을 야기할 수 있는데, 만성협착손상(chronic constriction injury),⁴⁾ 부분 좌골신경 결찰(partial sciatic nerve ligation),⁵⁾ 요수 5, 6번 척수신경 결찰(L5-6 spinal nerve ligation)⁶⁾과 같은 여러 동물 모델을 이용하여 연구가 활발히 진행되었다. 그러나 신경병증 관련 요통의 주 원인인 압박신경병증에 관해서는 이를 연구할 수 있는 모델이 뒤늦게 개발되었는데, 이에선 후근신경절과 신경근을 압박함으로써 신경손상을 가하는 만성후근신경절압박(chronic compression of dorsal root ganglion)⁷⁾ 방법이 이용된다. 이 만성후근신경절압박 모델은 임상의 압박신경병증을 대변할 수 있는데, 그 이유로는 첫째, 후근신경절 및 신경근을 장기적으로 압박하며, 둘째, 만성적인 기계적 및 열 통각과민을 유도하며, 셋째로, 특별한 운동장애를 보이지 않는다는 점이다. 이 모델을 이용하여 압박신경병증에 의해 유발되는 통증의 발병 기전을 규명키 위한 연구가 시도되고 있다.

외상신경병증 모델을 이용한 연구를 통하여 지금까지 신경병증통증의 생성기전에 관해 여러 가지 설명이 제시되고 있다.⁸⁾ 그중 하나로서 척수 내에서 지속적 억제계의 소실로 인한 체감각신경의 민감화 유도가 제시되고 있다.⁹⁾ 그러나 압박신경병증 상황에서도 척수내 GABA체계의 소실이 통증 유발에 관여하는지는 밝혀지지 않고 있다. 한편 GABA는 말초에 작용하여서도 통증 조절에 관여할 수 있는데 이에 관해서는 다음과 같은 실험증거가 있다. 즉, GABA 수용체가 일차구심신경의 말초 종말에 존재함이 관찰되었고, 포르말린 피하주사에 의해 유도된 통각과민이 GABA-A 수용체 작용제인 muscimol의 국소 주입에 의해 완화되었다.¹⁰⁾ 그러나 말초의 GABA 체계가 신경병증통증 조절에 관여하는지에 관해서는 전혀 알려지지 않고 있다. 본 연구는 압박신경병증을 유도하는 만성후근신경절압박 모델을 이용해서 압박신경병증통증에 관해 척수 내 GABA성 체계의 역할과 말초에 가해진 GABA관련 약물의 효과를 조사함을 연구목표로 삼았다.

대상 및 방법

1. 압박신경병증 모델 쥐의 제작

실험동물은 연세대학교 의과대학 실험 동물부에서 사육한 흰쥐(Sprague-Dawley, 200–250 g)를 사용하였고, 압박신경병증 모델은 Hu와 Xing의⁷⁾ 방법에 따라 제작하였다. 흰쥐를 enflurane (유도 3 vol%, 유지 2 vol%), 산소의 혼합가스로 마취시킨 뒤 요추추부위 척추를 따라 정중면으로 절개한 후 주위 근육을 적혀 요추 4/5번(L4–L5) 추간공을 드러냈다. 그 후 후근신경절 및 신경근을 압박하기 위해 지름 0.7

mm, 길이 4 mm의 스테인레스 철심을 L4–L5 추간공에 삽입하고, 근육과 피부를 다시 봉합한 후 회복실로 복귀시켰다. 수술과정은 같으나 후근신경절 및 신경근을 압박하지 않은 대조군 쥐를 제작하였다.

2. 행동학적 실험

1) 약물투여: 척수내 약물주입 방법은 요추천자(lumbar puncture)를 통해 거미막 밑 주입을 시행하였다. 흰쥐를 고농도의 enflurane (유도 4 vol%), 산소 혼합가스로 신속히 흡입 마취시킨 뒤, 천추로부터 극상돌기(spinous process)를 따라 T13–L1 척추를 확인한 후 Hamilton 주사기(26-G 바늘)를 T13–L1 극상돌기 사이에 있는 척수강(spinal canal)을 통하여 삽입하였다. 이때 주사기 끝은 거미막 밑에 존재토록 하는데 이는 lidocaine (2%, 10 μ l) 주입에 의한 하지마비로서 확인하였다. 약물의 주입은 15초에 걸쳐 시행하였다.

또 다른 약물주입 방법으로 발바닥 내 피하주사(intraplantar injection)를 시행하였다. 발바닥 내 주입은 신속히 흡입마취 후 Hamilton 주사기(30-G 바늘)를 이용하여 발바닥의 피하에 약물을 20 μ l의 용량으로 주입하였고, 30초에 걸쳐 시행하였다. 약물투여에 대한 행동반응검사는 압박손상을 가한지 1–3주일 경과 후에 실시하였다.

2) 기계적 통증반응 측정: 압박신경병증 모델에 있어서 통증반응 유발 여부는 행동검사를 통하여 조사하였다. 동물을 금속철망(망 간격, 0.5 \times 0.5 cm) 위쪽에 위치한 투명한 플라스틱 상자(8 \times 8 \times 25 cm) 안에 넣은 뒤, 이들이 환경 변화에 따르는 스트레스를 피하도록 15분 동안 적응시켰다. 동물이 적응된 후 가는 필라멘트(von Frey filament; Stoelting, Chicago, IL; 범위 1.65–5.18로서 0.008–12.5 g에 상응)가 부착된 자극기를 이용하여 철망 사이로 필라멘트를 뒹 발바닥에 가해주면서 발의 회피 반응 여부를 조사하였다. 여기서 회피반응을 일으키기 위한 필라멘트의 최저 강도를 발 회피반응역치(paw withdrawal threshold, PWT)라고 정의하고 이를 구하여 기계적 통증반응 정도의 지표로 삼는다. 즉, PWT가 감소하면 통증의 정도가 증가하는 것으로 판단한다. 이때 PWT는 기존에 발표된 상하 검증법(up-down testing paradigm)으로 측정하였다.¹¹⁾

3. 전기생리학적 실험

1) 전기생리실험을 위한 동물 준비: 전기생리실험을 위한 실험동물의 복강에 30% urethane (Sigma, St. Louis, MO, USA; 5 mg/kg)을 주사하여 마취시키고, 실험 도중에 동물이 깰 경우 추가 주사하였다. 골격근이완제를 주입하기 위해 외경 정맥에 가는 튜브(PE-10 tube)를 삽입하고, 기관 내 삽관하였다. 척수 후각에서의 신경기록을 위해 등쪽 털을 면도한 후 T13–L3 척추에서 후궁절제술을 시행하여 요수 팽대를 드러내었다. 시술 후 동물을 귀고정장치(ear bar)와 척추고정장치(spinal clamp)를 이용하여 뇌척수정위장치에 고정시키고

등쪽 피부를 펼쳐 외부 고정대에 잡아매어 풀(pool)을 형성한 뒤 척수 건조 방지를 위해 파라핀(paraffin) 오일을 채웠고, 이후 경막과 거미막을 제거하였다. Vecuronium bromide (베로니, 휴온스 사, 한국)를 미리 삽입한 외경정맥에 주사(4-6 mg/kg/h)해 근육을 마비시킨 후 인공호흡기(CWE Inc, Ardmore, PA, USA)로 호흡시켰고, CO₂ 분석기(CWE Inc, Ardmore, PA, USA)를 이용해 호기말 CO₂ 농도가 3.5-4.5%로 유지되도록 호흡량을 조절하였다. 전 실험 기간 동안 동물의 체온유지를 위해 직장온도를 감시하였으며, 열담요와 열전구를 사용하여 36-37°C의 체온을 유지하였다.

2) 요수 내 후각신경세포 반응도 측정: 요수 내 후각신경세포 반응도 측정을 위하여 압박손상을 가한지 1-3 주일 경과된 쥐와 대조군 쥐를 대상으로 통증 전달에 관여하는 것으로 알려진 광범위작동역(wide dynamic range, WDR) 신경세포로부터 단일신경활동을 기록하였다. 탄소전극(carbon electrode, 2-4 MΩ at 1 kHz)을 사용하여 L4-L5 척수 수준에서 척수 표면으로부터 미세위치조절기(Narishige, Tokyo, Japan)를 이용해 요수후각 내로 삽입하면서, 발바닥을 가볍게 솜방망이로 두드리며, 500-1,000 μm 깊이의 척수 후각에 존재하는 단일 신경세포 중 WDR 신경세포를 찾았다. 이때 WDR 신경세포란 brush, press, pinch 자극에 대해 모두 반응하는 세포로서 통각정보를 척수에서 고위 중추로 전달하는데 관여한다고 알려져 있다.¹²⁾ 기계적 자극으로는 세 종류가 이용되었는데, 체감각 수용장 중심을 붓으로 긁어가며 자극하거나(brush), 큰 동맥용 집게로 집거나(약 100 g/mm²의 힘 발휘, press), 또는 작은 동맥용 집게로 집는(약 400 g/mm²의 힘 발휘, pinch) 자극이었다.¹³⁾ 각 자극을 실험자의 손등 피부에 가해주었을 때 가벼운 촉각, 압각, 그리고 통각으로 인식되었다. 자극에 의해 탐지된 신경활동은 신호확장기(DAM-80, World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA)로 10,000배 증폭한 다음 오실로스코프 화면상에 나타내었다. 증폭된 여러 크기의 신경활동 신호로부터 분별기(window discriminator, World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA)를 이용하여 동

일한 크기를 가진 단일 신호를 분리하였으며, 단위 시간당 발생하는 단일 신경활동 신호의 개수는 전기생리자료 수집계(1401 plus, Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK)와 전기생리자료 분석 프로그램인 Spike 2 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK)를 이용하여 컴퓨터에 기록하였다.

4. 약물

실험에 사용된 약물로는 GABA 수용체 아형들에 대한 작용제나 대항제가 포함되었는데, 이들은 행동학적인 실험 시 요구추진자 및 발바닥 내 주입을 통해 주입하거나, 전기생리학적인 실험 시 요수 표면에 국소적으로 도포하였다. GABA-A 수용체의 작용제와 대항제로는 각각 muscimol (Tocris Cookson, UK)과 (-)-bicuculline methobromide (Tocris Cookson, UK)를, 그리고 GABA-B 수용체의 작용제와 대항제로는 baclofen (Sigma, St. Louis, MO, USA) 및 CGP 52432 (Tocris Cookson, UK)를 사용하였으며, 모든 시약은 실험에 사용할 농도에 맞추어 0.9% saline에 녹였다.

5. 통계분석

모든 자료는 평균 ± 표준오차(mean ± SEM)로 나타냈다. 행동학적 실험과 전기생리학적인 실험에서 각 그룹 간, 또는 신경세포 간의 비교는 Mann-Whitney rank-sum test로 분석을 하였고, 요수 내 후각 신경세포의 약물에 대한 반응도의 변화에 대한 분석은 paired t-tests를 통해서 분석하였다. P값이 0.05보다 작은 경우에 유의 있는 차이가 있다고 간주하였다.

결 과

1. 만성후각신경절압박에 의해 유도된 통증행동 및 요수 내 후각 신경세포 반응도의 변화

압박신경병증 모델에 있어서 통증행동의 유발과, 요수 내 후각 신경세포의 반응도의 변화를 보기 위해 행동학적 실험과 전기생리학적인 실험을 하였다.

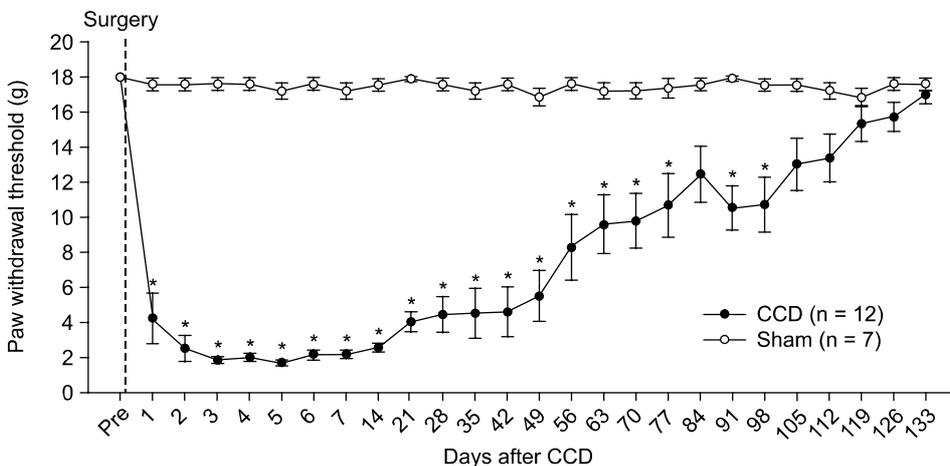


Fig. 1. Time courses of changes in paw withdrawal threshold (PWT) of rats that received a chronic compression of dorsal root ganglion (CCD) and of those that received sham-operation. PWTs were obtained from the hind paws ipsilateral to CCD or sham operation. *indicates P < 0.05 as compared with values of sham-operated group. Pre: pre-CCD values.

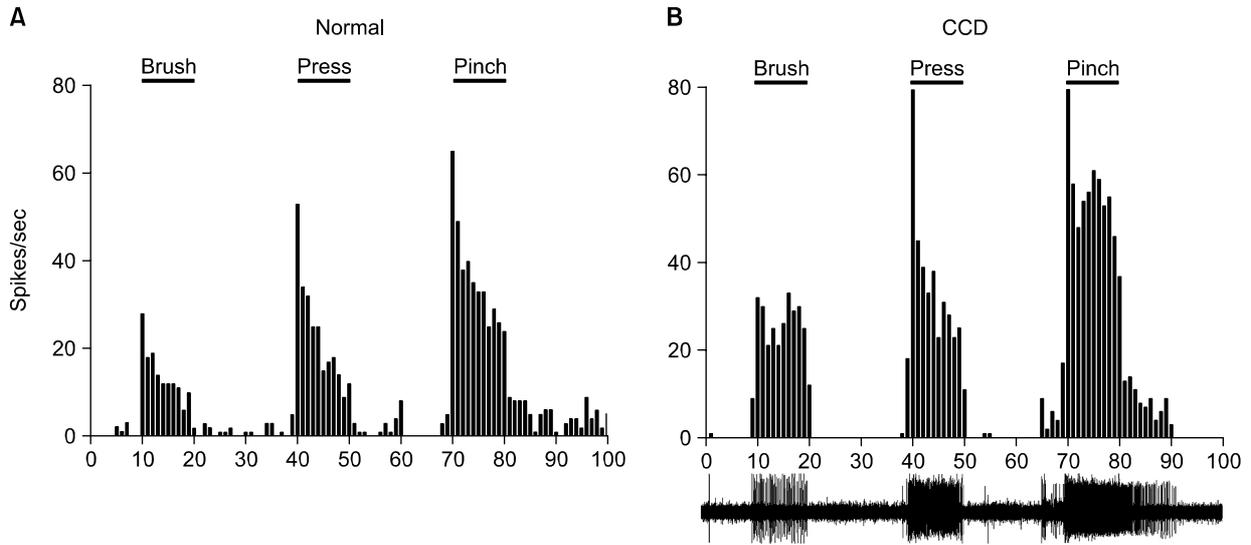


Fig. 2. Examples of mechanically evoked responses of spinal WDR neurons in normal and CCD rats. The single-pass peristimulus time histograms (bin width, 1 s) show the responses to three different mechanical stimuli applied for 10 s each. Insets below each histogram are recordings of neuronal activity. The stimuli included brushing, pressing, and pinching the center of the receptive field.

1) 행동학적 실험: 제5 요수 후근신경절 및 신경근을 압박 후 PWT는 18 g에서 하루 뒤에 4.22 ± 1.45 g ($n = 12$)으로 감소했으며 운동장애는 보이지 않았다(Fig. 1). 반면 후근신경절 및 신경근을 압박하지 않은 대조군의 PWT는 변화를 보이지 않았다($n = 7$). 만성후근신경절압박에 의해 유발된 기계적 통증반응은 10주 이상 유의하게 지속되었다.

2) 전기생리학적 실험: 후근신경절 및 신경근을 압박함으로써 기계적 통증반응을 보이는 모델 쥐를 대상으로 말초수용야에 가해진 일련의 기계적 자극(brush, press, pinch)에 대한 척수후각세포 반응도를 관찰하였다(Fig. 2).

본 실험에서 반응도가 기록된 척수후각 WDR 신경세포는 제4-5 요수 표면으로부터 정상 쥐의 경우 645 ± 17 μ m 깊이에 위치했으며, 모델 쥐는 693 ± 23 μ m 깊이에 위치했다. 이 세포들의 해부학적 위치는 층판 3-5층(laminae III-V)이었다. 모델 쥐($n = 22$)는 손상 받은 쪽에 대해서 정상 쥐($n = 24$)보다 기계적 자극에 대한 반응도가 모두 증가하였다(Fig. 3).

Brush 자극은 정상 쥐의 WDR 신경세포 반응도가 147.6 ± 12.2 spikes/10 sec을 보인 반면 모델 쥐는 282.1 ± 8.2 spikes/10 sec을 보였다. 또한 press자극(정상 쥐: 290.1 ± 26.3 , 모델 쥐: 378.1 ± 54.3)과 pinch자극(정상 쥐: 420.3 ± 29.5 , 모델 쥐: 554.1 ± 58.4) 모두 정상 쥐보다 반응도가 증가하였는데, press자극의 경우 통계적으로 유의하지는 않았다. 이와 같은 결과는 압박신경병증이 유발되었을 때 무해한 자극 및 유해한 자극에 의한 척수후각 신경세포 반응도가 항진되었음을 의미한다.

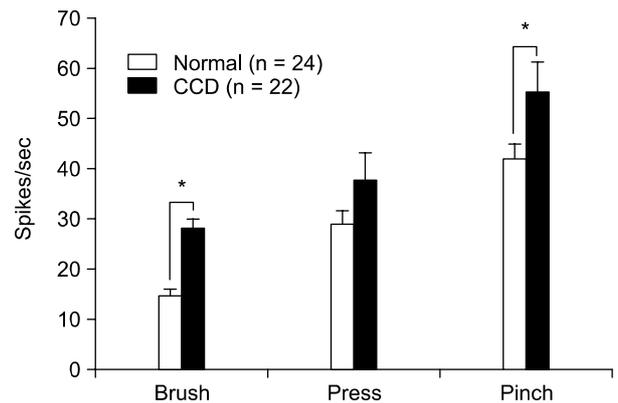


Fig. 3. Comparison of mechanical responsiveness of spinal WDR neurons in normal and CCD rats. The discharge rates of the impulses evoked from WDR neurons by the three mechanical stimuli (brush, press, and pinch) applied to somatic receptive fields is evaluated. *indicates $P < 0.05$ as compared with values of normal rats.

2. 만성후근신경절압박 후 요수 후각 내 GABA성 억제 의 소실

후근신경절 및 신경근을 압박 후 전기생리학적 방법으로 GABA성 억제의 소실 여부를 관찰했다(Fig. 4). 정상 쥐의 경우 GABA-A 수용체 대항제인 bicuculline (13.60 nmol, $n = 10$)을 요수 표면에 적용 후 15분에 말초수용야에 기계적 자극(brush, press, pinch)을 가했을 때 항진된 반응을 보였다. Brush 자극에 대한 척수후각 신경세포 반응은 대조(control, 100%) 반응에 비해 $280 \pm 12.2\%$ 증가했으며, press (대조대

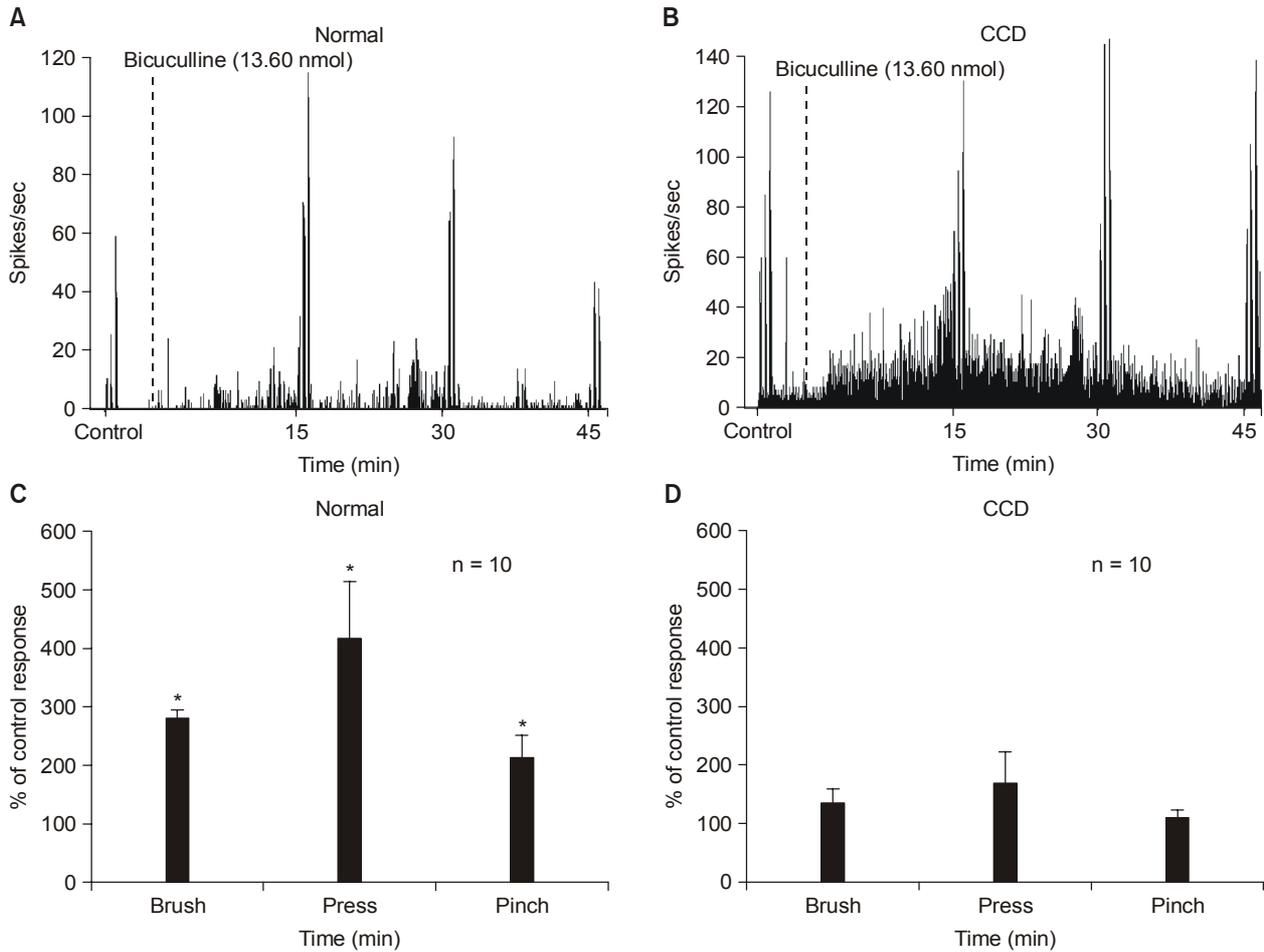


Fig. 4. Effects of topical application of GABA-A receptor antagonist bicuculline onto the spinal cord surface on mechanical responsiveness of spinal WDR neurons in normal and CCD rats. In upper graphs, the single-pass peristimulus time histograms show typical examples of mechanical responses to a set of three different stimuli (brush, press, pinch) applied successively for 10 sec per each with an inter-stimulus interval of 20 sec to somatic receptive field of spinal WDR neurons obtained from normal (A) and CCD (B) rats. A set of stimuli were applied 5 min before and every 15 min after topical application of bicuculline. The mean number of impulses evoked from individual neurons by each stimulus is evaluated. The ratio of the mean value at 15 min post-injection to pre-injection value for each stimulus was expressed as percentage in lower graphs (C and D). *indicates $P < 0.05$ as compared with pre-injection values of corresponding stimuli.

비: $414.9 \pm 100.2\%$ 자극과 pinch (대조대비: $210.4 \pm 40.1\%$) 자극에 대한 반응 역시 증가했다(Fig. 4A, C). 하지만 모델 쥐는 대조 반응과 비교하여 유의한 변화를 보이지 않았다(Fig. 4B, D). 이와 같은 결과는 정상 쥐는 척수 후각 내에서 GABA성 억제제가 유지되고 있지만, 압박신경병증 모델 쥐는 소실되었음을 보여준다.

3. 압박신경병증 모델 쥐에 GABA 수용체 작용제를 요수에 적용 시 통증행동 및 요수 내 후각 신경세포 반응도에 미치는 효과

기계적 통증반응이 유발된 압박신경병증 모델 쥐에 GABA 수용체 작용제의 효과를 알아보기 위해 muscimol과 baclofen을 이용하여 행동학적 및 전기생리학적 실험을 하였다.

1) 행동학적 실험: 기계적 통증반응이 유발된 모델 쥐에

요추천자 방법으로 GABA-A, B 수용체 작용제인 muscimol (0.88, 2.63 그리고 8.76 nmol)과 baclofen (0.47, 1.40 그리고 4.68 nmol)을 각각 요수 4, 5 부위 거미막 밑에 주입하고, 15분 간격으로 PWT를 측정하였다(Fig. 5). Muscimol을 0.88 nmol ($n = 6$) 주입 시 PWT는 2.294 ± 0.15 g에서 11.2 ± 0.88 g으로 증가하였다(Fig. 5A). 농도를 2.63 nmol ($n = 6$, pre: 2.485 ± 0.19 g, 15분: 11.74 ± 1.98 g), 8.76 nmol ($n = 7$, pre: 2.731 ± 0.28 g, 15분: 17.608 ± 0.36 g) 주입 시는 농도에 비례해서 PWT가 증가하였다. 하지만 8.76 nmol 주입 시 7마리 중 4마리에서 약간의 운동장애를 보였다. 이와 같은 muscimol의 통증반응 완화효과가 요수 내의 GABA-A 수용체를 경유해 작용했는지 보기 위해 GABA-A 수용체 대항제인 bicuculline (13.60 nmol)을 muscimol (8.76 nmol)과 함께 주입했을 때 muscimol의 완화효과가 억제되었다($n = 6$).

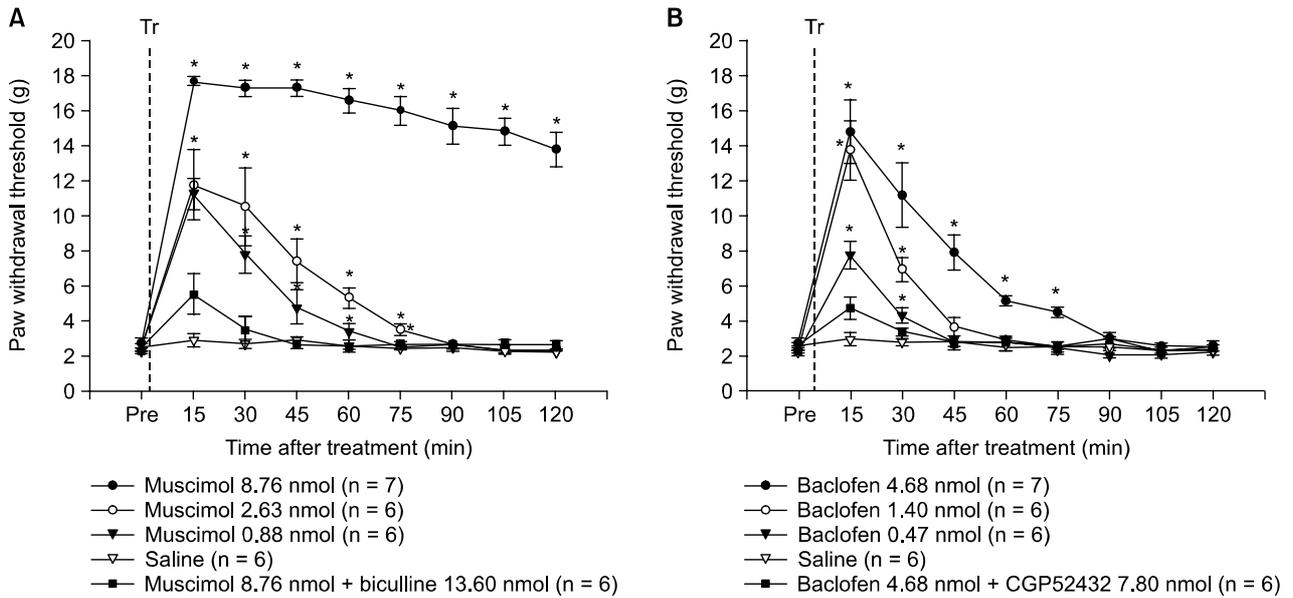


Fig. 5. Effects of an intrathecal (i.t.) injection of GABA receptor agonists on mechanical hyperalgesia in CCD rats. In rats with reduced paw withdrawal threshold (PWT) following CCD, an i.t. injection of GABA-A receptor agonist muscimol (A) or GABA-B receptor agonist baclofen (B) reverses PWT reduction. The vertical broken line in each graph represents the time point of i.t. injection. In both cases, agonist-induced reversion is strengthened in its intensity and duration in a dose-dependent manner and is antagonized by a selective antagonist (see line with closed-squares in each graph). *indicates $P < 0.05$ as compared with values of saline-injection group at particular time points. Pre: pre-treatment values, Tr: drug treatment.

모델 쥐에 GABA-B 수용체 작용제인 baclofen을 0.47 nmol ($n = 6$) 주입 후 15분에 PWT가 2.123 ± 0.15 g에서 7.692 ± 0.79 g까지 증가하였다(Fig. 5B). 1.40 nmol ($n = 6$, pre: 2.332 ± 0.19 g, 15분: 13.678 ± 1.73 g), 4.68 nmol ($n = 7$, pre: 2.657 ± 0.24 g, 15분: 14.737 ± 1.8 g)을 주입 시에도 농도에 비례해서 PWT가 증가하였고, 효과 역시 오래 지속되었다. Baclofen의 통증반응 완화효과가 요수 내의 GABA-B 수용체를 경유해 나온 효과인지 알아보기 위해 GABA-B 수용체 대항제인 CGP 52432 (7.80 nmol)를 baclofen (4.68 nmol)과 함께 주입했을 때 baclofen의 완화효과가 억제되었다($n = 6$).

이와 같은 결과는 요수에 적용한 GABA 수용체 작용제가 기계적 통증반응을 보이는 압박신경병증 모델 쥐에 효과적으로 통증반응을 완화하며, 이 효과는 요수 내 GABA 수용체를 경유하여 나타난 것을 보여준다.

2) 전기생리학적 실험: 압박신경병증 모델 쥐 요수 표면에 GABA-A, B 수용체 작용제를 적용하고 말초 수용야에 기계적 자극을 가해주었다. 이후 요수 내 후각 WDR 신경세포의 반응도를 15분 단위로 측정했다(Fig. 6). 모델 쥐의 요수 표면에 muscimol (0.88 nmol, $n = 10$)을 적용 후 15분에 brush 자극을 가할 시 반응은 대조(control, 100%) 반응에 비해 $48.8 \pm 17.8\%$ 의 감소된 반응을 보였고, press (대조 대비: $15.8 \pm 3.6\%$), pinch (대조 대비: $12.4 \pm 5.4\%$) 자극 시에도 유의하게 감소했으며, 약 1시간 가까이 효과가 지속되었다(Fig. 6A, C).

모델 쥐의 요수 표면에 baclofen (0.47 nmol, $n = 10$)을 적

용 후 15분 뒤 말초 수용야에 기계적 자극을 가해주면 반응도(대조대비, brush: $51.6 \pm 17.4\%$, press: $13.1 \pm 6.8\%$, pinch: $17.3 \pm 8.3\%$)가 유의하게 감소했으며, 약 1시간 가까이 효과가 지속되었다(Fig. 6B, D).

이와 같은 결과는 압박신경병증에 있어서 요수 내 후각 신경세포의 반응도가 GABA-A, B 수용체 작용제에 의해 효과적으로 억제되며, 이는 행동학적인 실험 결과와 일치함을 보여준다.

4. 정상 쥐 및 압박신경병증 모델 쥐의 말초에 가해진 GABA-A 수용체 대항제의 효과

말초의 GABA 체계가 정상쥐에서 뒷발의 기계적 반응도에 관여하는지를 보기 위해 GABA-A 수용체 대항제인 bicuculline (0.09 μ mol)을 뒷발바닥에 피하주사하고 PWT를 15분 단위로 측정했다. 정상 쥐의 PWT는 말초에 가해진 bicuculline에 영향을 받지 않았다(Fig. 7A, $n = 6$). 동일한 처치는 후근신경절압박에 의해 낮아진 PWT에도 영향을 미치지 않았다(Fig. 7B, $n = 6$). 이와 같은 결과는 정상쥐 뒷발의 기계적 반응도 유지에는, 척수 내의 경우와는 달리, 말초에서의 지속적 GABA성 억제(tonic GABAergic inhibition)가 관여하지 않음을 시사한다.

5. 압박신경병증 모델 쥐의 말초에 가해진 GABA-A 수용체 작용제의 효과

모델 쥐에 GABA-A 수용체 작용제인 muscimol을 발바닥

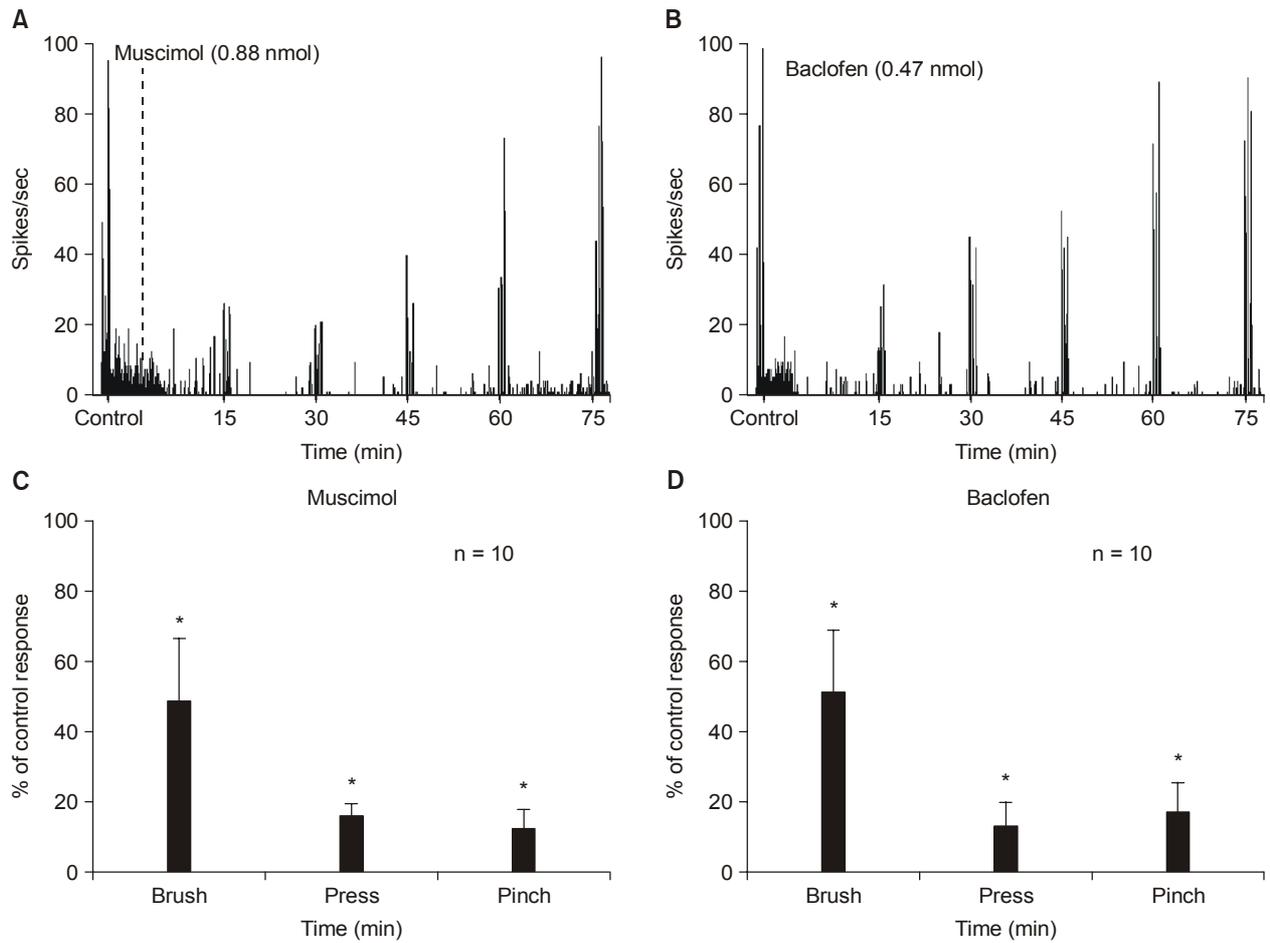


Fig. 6. Effects of topical application of GABA receptor agonists onto the spinal cord surface on mechanical responsiveness of spinal WDR neurons in CCD rats. In upper graphs, the single-pass peristimulus time histograms show typical examples of mechanical responses to a set of three different stimuli (brush, press, pinch) applied successively for 10 sec per each with an inter-stimulus interval of 20 sec to somatic receptive field of spinal WDR neurons in CCD rats. A set of stimuli were applied 5 min before and every 15 min after topical application of GABA-A receptor agonist muscimol (A) and of GABA-B receptor agonist baclofen (B). The mean number of impulses evoked from individual neurons by each stimulus is evaluated. The ratio of the mean value at 15 min post-injection to pre-injection value for each stimulus was expressed as percentage in lower graphs (C and D). *indicates $P < 0.05$ as compared with pre-injection values of corresponding stimuli.

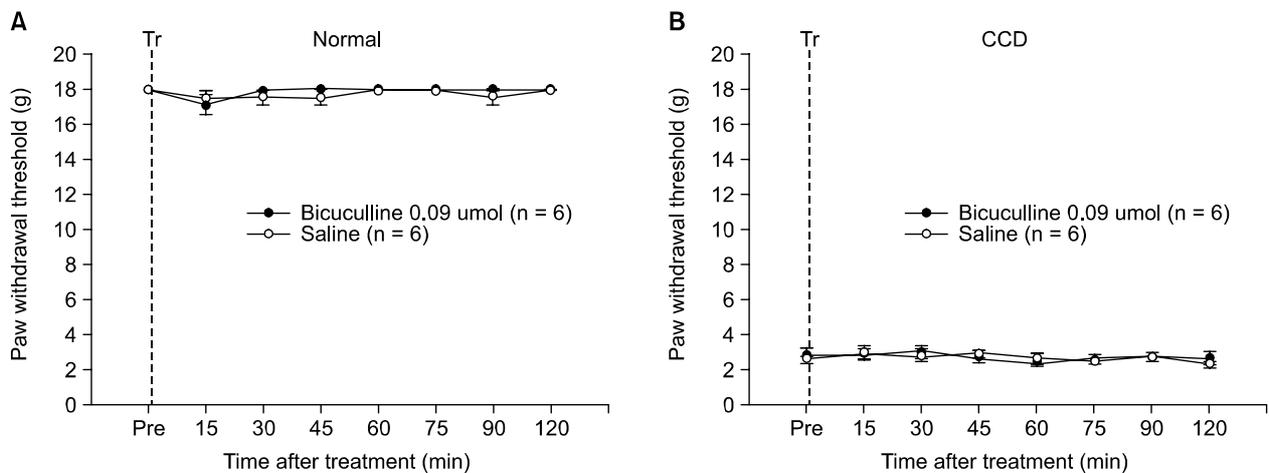


Fig. 7. Effects of an intraplantar (i.pl.) injection of bicuculline on mechanical sensitivity of normal and CCD rats. An i.pl. injection of GABA-A receptor antagonist bicuculline is given into the affected hind paw of normal (A) and CCD (B) rats. In normal rats, no significant differences are observed in paw withdrawal threshold values at particular time points between bicuculline-treated and saline-treated groups. The same holds true for CCD rats. Pre: pre-treatment values, Tr: drug treatment.

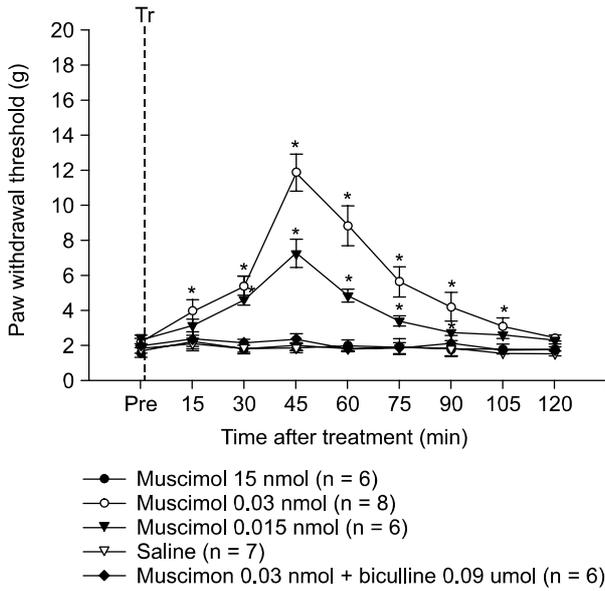


Fig. 8. Effects of an intraplantar (i.pl.) injection of muscimol on mechanical hyperalgesia in CCD rats. In rats with reduced paw withdrawal threshold (PWT) following CCD, an i.pl. injection of GABA-A receptor agonist muscimol reverses PWT reduction. This reversion is dose-dependent at lower doses of muscimol (0.015 and 0.03 nmol). However, reduced PWT is not affected by a high dose of muscimol (15 nmol). The reversion by 0.03 nmol muscimol is antagonized by GABA-A receptor antagonist bicuculline. The vertical broken line in each graph represents the time point of i.pl. injection. *indicates $P < 0.05$ as compared with values of saline-injection group at particular time points. Pre: pre-treatment values, Tr: drug treatment.

내 주입을 통해 말초에 가해주고, 15분 간격으로 PWT를 측정했다(Fig. 8). 저농도의 muscimol (0.03 nmol, $n = 8$)은 만성 후근신경절압박에 의해 낮아진 PWT (2.187 ± 0.2 g)를 45분 후 11.889 ± 1.06 g까지 증가시켰고 효과는 약 2시간 지속되었다. 하지만 고농도의 muscimol (15 nmol, $n = 6$)은 PWT에 영향을 미치지 못했다(Fig. 8). 저농도 muscimol (0.03 nmol)의 통증반응 완화효과가 일차구심신경의 말초종말에 존재하는 GABA-A 수용체를 경유한 효과인지 보기 위해 GABA-A 수용체 대항제인 bicuculline (0.09 μ mol)와 함께 주입했을 때 완화효과가 억제되었다. 이와 같은 결과는 저농도의 GABA-A 수용체 작용제가 모델 쥐의 기계적 통증반응을 완화하며, 이는 일차구심신경의 말초종말에 존재하는 GABA-A 수용체를 경유하여 나타난 효과임을 보여준다.

6. 정상 쥐의 말초에 가해진 GABA-A 수용체 작용제의 효과

모델 쥐의 말초에 주입한 고농도의 muscimol (15 nmol)이 PWT에 영향을 주지 못해 정상 쥐의 말초에 muscimol을 적용 후 PWT를 15분 단위로 측정해보았다(Fig. 9). 모델 쥐의 기계적 통증반응을 완화한 저농도의 muscimol (0.03 nmol, $n = 6$)은 정상 쥐의 PWT에 영향을 주지 못했다. 하지만 고농도

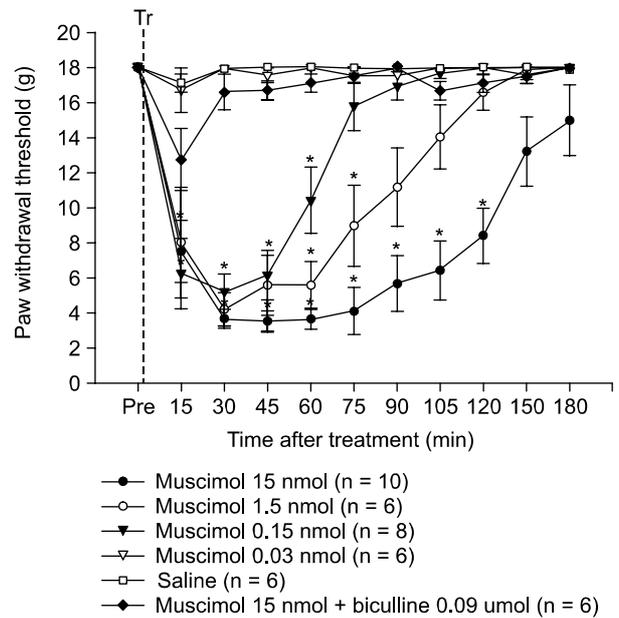


Fig. 9. Effects of an intraplantar (i.pl.) injection of muscimol on mechanical sensitivity in normal rats. An i.pl. injection of muscimol at a low dose (0.03 nmol) has no effect on paw withdrawal threshold (PWT) values in normal rats. Higher doses of muscimol reduces PWTs in a dose-dependent manner with the highest reduction at 15 nmol. The PWT reduction by 15 nmol muscimol is antagonized by GABA-A receptor antagonist bicuculline at 0.09 μ mol. The vertical broken line in each graph represents the time point of i.pl. injection. *indicates $P < 0.05$ as compared with values of saline-injection group at particular time points. Pre: pre-treatment values, Tr: drug treatment.

의 muscimol (0.15 [$n = 8$], 1.5 [$n = 6$] 그리고, 15 [$n = 10$] nmol)을 주입하였을 때 PWT가 감소하여 기계적 통증반응을 유발하였고 지속시간은 농도에 비례하였다(Fig. 9). 이러한 효과가 말초종말에 존재하는 GABA-A 수용체를 매개한 효과인지 확인하기 위해 GABA-A 수용체 대항제인 bicuculline (0.09 μ mol, $n = 6$)을 함께 주입했을 때 통증반응 완화효과는 억제되었다. 이와 같은 결과는 저농도의 GABA-A 수용체 작용제를 말초에 가했을 시 정상 쥐의 PWT에는 영향을 미치지 못했지만, 고농도로 말초에 가했을 시에는 기계적 통증반응을 유발시키며, 이는 일차구심신경의 말초종말에 존재하는 GABA-A 수용체를 경유하여 나타난 효과임을 보여준다.

7. 정상 쥐 및 압박신경병증 모델 쥐의 말초에 가해진 GABA-B 수용체 작용제의 효과

말초에 가해진 GABA-B 수용체 작용제가 정상 쥐 및 모델 쥐의 PWT에 영향을 주는지 확인하기 위해 baclofen을 발바닥 내 주입하였다(Fig. 10). 정상 쥐의 PWT는 말초에 가한 저농도(0.1 nmol, $n = 7$) 및 고농도(500 nmol, $n = 6$)의 baclofen에 변화를 보이지 않았고, 모델쥐 역시 저농도(0.1 nmol, $n = 6$)와 고농도(500 nmol, $n = 6$) 모두 유의한 변화를 보이지 않았다. 이와 같은 결과는 GABA-B 수용체 작용

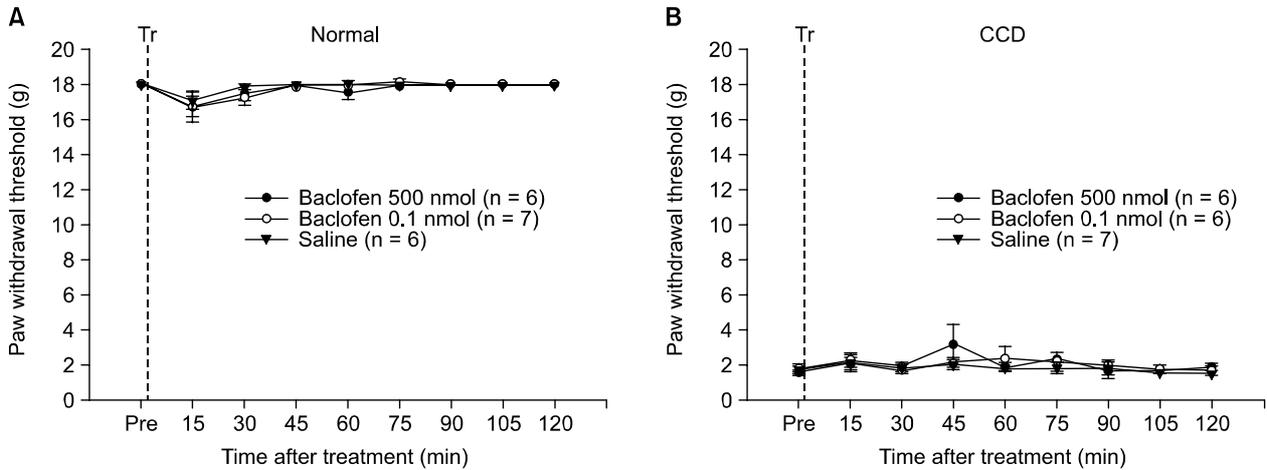


Fig. 10. Effects of an intraplantar (i.pl.) injection of baclofen on mechanical sensitivity of normal and CCD rats. An i.pl. injection of GABA-B receptor agonist baclofen is given into the affected hind paw of normal (A) and CCD (B) rats. In normal rats, no significant differences are observed in paw withdrawal threshold values at particular time points between baclofen-treated and saline-treated groups, regardless of a high (500 nmol) or low (0.01 nmol) dose of baclofen treated. The same holds true for CCD rats. Pre: pre-treatment values, Tr: drug treatment.

제가 말초에서 정상 쥐와 모델 쥐의 PWT에 영향을 주지 못함을 보여준다.

고 찰

압박신경병증에 의해 생성되는 통증의 유발기전에 대한 연구는 많이 부족하다. 하지만 외상신경병증에 의해 생성되는 통증의 유발기전에 관해서는 많은 연구가 이루어졌는데, 특히 척수후각에서 여러 가지 변화가 일어난다고 보고되었다. 이와 같은 척수 내 변화에는 첫째, 낮은 역치의 자극에 반응하는 Aβ 섬유 말단이 척수 후각 내에서 비정상적으로 발아(sprouting)하여 무해한 자극을 유해한 자극으로 전달하고,^{14,15)} 둘째 척수후각세포의 민감화가 유발되거나,¹⁶⁾ 셋째 척수 내 억제성 신경전달물질의 감소에 의해 척수후각세포의 흥분도가 증가하는 탈억제(disinhibition) 등이 있다.¹⁷⁾ 척수 후각 내 GABA성 중간신경에 존재하는 GABA는 중요한 억제성 신경전달물질로서 통증정보 전달을 조절하는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다.¹⁸⁾ 본 실험은 압박신경병증에서도 GABA성 억제의 소실, 즉 탈억제에 의해 중추민감화 및 기계적 통증반응이 유발되는지 알아보았다.

본 실험 결과에서 압박신경병증 모델 쥐는 기계적 통증반응이 유발됨을 보였고 또한 이들 모델 쥐는 요수 내 후각 신경세포의 반응도가 정상 쥐의 그것과 비교하여 증가해 있었다. 이러한 모델 쥐에서 관찰된 후각 신경세포의 반응도 증가는 정상 쥐를 대상으로 요수표면에 GABA-A 수용체 대항체인 bicuculline을 적용 시 요수 후각신경세포에서도 유사하게 측정되었다. 이는 압박신경병증 모델 쥐에서 후근신경절 압박에 의한 신경손상 후 척수 후각 내 GABA성 억제의 소실을 통해 후각신경세포의 반응도가 향진되었고 그

결과 통증반응을 유발하였을 가능성을 시사한다. 이러한 가능성은 외상신경병증의 유발기전의 하나로 제시된 바 있는데, 다음과 같은 실험 근거에 기초한다. 즉, Ibuki 등과¹⁹⁾ Eaton 등은²⁰⁾ 만성협착손상(chronic constriction injury, CCI) 모델에서 척수 후각의 GABA-면역반응세포가 90% 이상 감소한다고 보고했다. Castro-Lopes는 좌골신경을 절단한 모델에서 척수 후각의 GABA-면역반응세포가 감소한다고 보고하였다.²¹⁾ GABA-면역반응세포의 감소는 GABA성 중간신경의 세포사를 의미하는데, 세포사를 유발하는 원인은 지금까지 밝혀진 바는 없지만 신경손상 시 유발된 신경임펄스에 의해 과도하게 글루타민산이 분비되고, GABA성 중간신경의 흥분독성(excitotoxic) 세포사를 유발하는 것으로 생각된다.²²⁾ Moore는 척수후각신경을 대상으로 실시한 전기생리학적 실험을 통해 CCI와 SNI (spared nerve injury) 모델 쥐의 경우 정상 쥐에 비해 GABA 작용에 의한 억제 시냅스 후 전류 (inhibitory post-synaptic currents)가 감소되었음을 보임으로써,²³⁾ 외상신경병증 하에는 척수후각 내 GABA성 억제의 감소에 관한 가능성을 제시하였다. 이상에서 언급한 실험증거는 차후 압박신경병증통증 상황 하에서도 밝혀져야 할 것이다.

한편 외상신경병증 통증 모델 쥐에서 척수후각의 얇은 층판에서 GABA성 중간신경의 수가 감소되지 않았음을 관찰한 보고가 최근에 발표되었다.^{24,25)} 이 결과는 본 연구에서 사용한 압박신경병증 모델 쥐의 척수후각 내에서 GABA성 중간신경의 소실 없이도 GABA성 억제의 감소가 이루어져 후각세포의 반응도 향진이 이루어질 수 있음을 시사한다. 즉, GABA성 중간신경 또는 GABA 수용체의 기능이상을 예상할 수 있는데, 그 가능성은 다음과 같다. 첫째, GABA성 중간신경에서 GABA가 고갈될 수 있다. 신경이 손상될 시 척수 후각 내에 과도하게 글루타민산이 분비되면, GABA성

중간신경에서 GABA 역시 많이 분비될 것이다. 차후 GABA가 다시 재생될 시간이 부족해 GABA의 분비가 감소하고 고갈될 수 있다. 둘째, GABA성 중간신경에서 GABA의 합성이 감소할 수 있다. 외상신경병증의 경우 척수 내 GABA를 합성하는 효소인 glutamic acid decarboxylase (GAD) 65가 감소하였다고 보고되었는데,²³⁾ 이는 GABA의 감소로 이어지게 될 것이다. 셋째, GABA와 결합할 수 있는 GABA 수용체의 수가 감소할 수 있다. 외상신경병증의 경우 일차구심신경에 존재하는 GABA-A 수용체의 mRNA가 감소한다고 보고되었다.²⁶⁾ 이는 일차구심신경의 중추종말에 존재하는 GABA-A 수용체 역시 감소할 수 있다는 것을 보여준다. 넷째, GABA와 GABA 수용체의 결합 친화력이 떨어질 수 있다. 좌골신경을 절단한 신경병증 모델의 경우에는 척수 후각에서 GABA와 GABA-B 수용체의 결합능력이 감소한다고 보고되었다.²¹⁾ 하지만 본 실험에서 사용한 압박신경병증 모델 쥐의 경우, 요수에 GABA 수용체 작용제를 적용 시 요수후각세포의 반응도가 감소함을 보였는데, 이는 압박신경병증에서는 위에서 언급한 세 번째와 네 번째 가능성은 배제될 수 있음을 시사한다.

압박신경병증의 중추민감화를 유발하는데 있어서 GABA성 억제제의 소실이 기여한다면, 척수에 GABA 수용체 작용제를 적용하면 통증반응을 완화하는데 효과적일 수 있음을 의미한다. 본 실험에서 척수에 GABA-A, B 수용체 작용제 (muscimol, baclofen)를 적용 시 만성후근신경절압박에 의해 유발된 기계적 통증반응이 농도-의존적으로 완화됨을 보였다. 이 결과는 외상신경병증 모델에서 행동학적 실험을 통해 관찰한 결과와 일치하였다.^{27,28)} 고농도의 muscimol (8.76 nmol) 적용 시 유발된 PWT의 증가는 척수 전각(ventral horn)에 존재하는 운동신경에 작용한 muscimol의 영향에 의한 운동장애의 결과가 포함되었을 가능성도 고려할 수 있다. 이는 GABA 수용체가 척수전각 내 운동신경에 존재하기¹⁸⁾ 때문이다. 전기생리학적 실험에서는 GABA-A, B 수용체 작용제 모두 말초 수용체에 가한 무해한 brush 자극과 유해한 pinch 자극에 대한 요수후각세포의 반응을 감소시켰다. 특히 무해한 자극보다는 유해한 자극에 대한 반응이 더욱 감소하였는데, 이는 A β 형 구심신경 보다 A δ 및 C 형 구심신경에 GABA-A, B 수용체가 많이 존재한다는 관찰에²⁹⁾ 의해 설명될 수 있다.

일차구심신경의 말초종말(peripheral terminal)에 GABA-A 수용체가 존재한다고 보고되었다.¹⁰⁾ 이는 GABA 수용체가 중추뿐만 아니라 말초에서도 통증조절에 관여할 가능성을 제시해 준다. 말초의 GABA 체계가 압박신경병증 통증 조절에 관여하는지에 알아보기 위해 모델 쥐의 발바닥에 GABA-A 수용체 작용제(muscimol)를 저농도로 적용 시 기계적 통증반응이 완화되었다. 이에 대한 정확한 기전은 밝혀지지 않았지만 다음과 같은 가능성이 있다. 일차구심신경세포에 GABA를 적용 시에는 과분극이 아닌 탈분극을 유발하는 것으로

보고되었다.³⁰⁾ 그 이유는 일차구심신경세포에 Na⁺-K-2Cl⁻ 동시수송기(co-transporter)가 많이 발현되어있어 세포내 Cl⁻ 농도가 세포외 Cl⁻ 농도보다 높고, 그에 따라 Cl⁻ 평형전위가 안정막 전위보다 높다(전위의 절대값은 작음). 그러므로 GABA가 GABA-A 수용체에 결합하여 Cl⁻ 통로가 열릴 시에는 Cl⁻ 이온이 세포막 밖으로 배출되고 막전압이 탈분극된다.³¹⁾ 탈분극으로 인해 전위형 Na⁺통로(voltage-gated Na⁺ channel)와 Ca²⁺통로(voltage-gated Ca²⁺ channel)가 비활성화되어 활동전위의 크기가 작아지게 되고, 중추종말에서 흥분성 신경전달물질의 분비가 감소하는 것으로 알려졌다.³²⁾ 본 실험과 같이 일차구심신경의 말초종말에 존재하는 GABA-A 수용체에 작용제가 결합해 탈분극을 유도한다면, 중추종말에서 흥분성 신경전달물질의 분비가 감소하고 통증반응을 완화할 수 있을 것이다. 하지만 고농도의 GABA-A 수용체 작용제는 정상 쥐에서 기계적 통증반응을 유발하였다. 이는 말초에 적용한 고농도의 GABA-A 수용체 작용제가 일차구심신경 특히 통각수용구심로(nociceptive afferent)의 막전위를 역치(threshold) 이상으로 탈분극시켜 활동전위를 유발하고, 이로 인해 척수후각 내 이차통증전달세포가 민감화되었기 때문인 것으로 설명될 수 있다.

일반적으로 일차구심신경의 중추종말에 위치하는 GABA-B 수용체에 GABA가 결합해 활성화되면, 전위 의존성 Ca²⁺ 통로를 차단해 흥분성 신경전달물질의 분비가 감소하는 것으로 보고되었다.^{33,34)} 하지만 압박신경병증 모델에 있어서 말초에 가한 GABA-B 수용체 작용제인 baclofen은 PWT에 영향을 미치지 못했다. 그 이유는 일차구심신경의 말초종말에 GABA-B 수용체가 존재하지 않거나, 만약 존재하더라도 중추종말에 있는 전위형 Ca²⁺ 통로까지 영향을 미치지 못하는 것으로 보인다.

요약하면, 본 연구에서는 만성후근신경절압박에 의해 유발된 신경병증통증에 관해서 척수 내 GABA성 체계의 역할과 말초에 가해진 GABA 관련 약물의 효과를 조사하기 위해 압박신경병증 모델 쥐와 정상 쥐를 대상으로 행동학적 및 전기생리학적 실험을 실시하여 다음의 결과를 얻었다. 첫째, 압박신경병증 모델 쥐에서 후근신경절 및 신경근 압박 직후 압박된 쪽 발의 PWT가 감소함으로써 통증반응이 유발됨을 보였으며 이는 10주 이상 지속되었다. 둘째, 통증반응을 보인 모델 쥐에서 요수후각신경세포는 무해한 자극뿐만 아니라 유해한 자극에 대한 반응성도 항진되어 있었다. 셋째, 모델 쥐 요수후각세포의 항진된 반응도는 요수표면에 가해진 bicuculline (GABA-A 수용체 대항제)에 의해 영향 받지 않았으나, 정상 쥐 요수후각세포는 같은 bicuculline 처리에 의해 그 반응도가 항진되었다. 넷째, 모델 쥐에서 관찰된 통증반응과 항진된 요수후각세포 반응도는 각각 거미막 밑 주사나 요수표면 적용을 통해 가해진 muscimol (GABA-A 수용체 작용제)과 baclofen (GABA-B 수용체 작용제)에 의해 완화 및 억제되었다. 다섯째, 모델 쥐의 압박 쪽 발에서 관찰된 통증반응은 압박 쪽 발바닥에 피하 주사한 저농도

muscimol (0.015–0.03 nmol)에 의해 완화되었으며 고농도 muscimol (15 nmol)과 baclofen (0.1–500 nmol)에는 영향 받지 않았다. 이들 결과에 기초하면, 만성후근신경절압박에 의한 신경병증통증에 관하여 척수 내 GABA성 억제의 소실을 통한 척수후각세포의 반응도 향진이 하나의 유발기전일 수 있으며, 임상적 치료법으로는 척수에 GABA-A, B 수용체 작용제의 적용과 말초에 저농도의 GABA-A 수용체 작용제의 적용을 제안할 수 있다.

참 고 문 헌

1. Woolf CJ, Mannion RJ: Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms, and management. *Lancet* 1999; 353: 1959-64.
2. Berger A, Dukes EM, Oster G: Clinical characteristics and economic costs of patients with painful neuropathic disorders. *J Pain* 2004; 5: 143-9.
3. Andersson GB: Epidemiological features of chronic low-back pain. *Lancet* 1999; 354: 581-5.
4. Bennett GJ, Xie YK: A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988; 33: 87-107.
5. Seltzer Z, Dibner R, Shir Y: A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain* 1990; 43: 205-18.
6. Kim SH, Chung JM: An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 1992; 50: 355-63.
7. Hu SJ, Xing JL: An experimental model for chronic compression of dorsal root ganglion produced by intervertebral foramen stenosis in the rat. *Pain* 1998; 77: 15-23.
8. Woolf CJ: Dissecting out mechanisms responsible for peripheral neuropathic pain: Implications for diagnosis and therapy. *Life Sci* 2004; 74: 2605-10.
9. Sivilotti L, Woolf CJ: The contribution of GABA-A and glycine receptors to central sensitization: disinhibition and touch-evoked allodynia in the spinal cord. *J Neurophysiol* 1994; 72: 169-79.
10. Carlton SM, Zhou S, Coggeshall RE: Peripheral GABA(A) receptors: evidence for peripheral primary afferent depolarization. *Neuroscience* 1999; 93: 713-22.
11. Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL: Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Meth* 1994; 53: 55-63.
12. Kenshalo DR Jr, Anton F, Dubner R: The detection and perceived intensity of noxious thermal stimuli in monkey and man. *J Neurophysiol* 1989; 62: 429-36.
13. Palecek J, Paleckova V, Dougherty PM, Carlton SM, Willis WD: Responses of spinothalamic tract cells to mechanical and thermal stimulation of skin in rats with experimental peripheral neuropathy. *J Neurophysiol* 1992; 67: 1562-73.
14. Woolf CJ, Shortland P, Reynolds M, Ridings J, Doubell T, Coggeshall RE: Reorganization of central terminals of myelinated primary afferents in the rat dorsal horn following peripheral axotomy. *J Comp Neurol* 1995; 360: 121-34.
15. Sugimoto T, Bennett GJ, Kajander KC: Transsynaptic degeneration in the superficial dorsal horn after sciatic nerve injury: effects of a chronic constriction injury, transection, and strychnine. *Pain* 1990; 42: 205-13.
16. Woolf CJ: Evidence for a central component of post-injury pain hypersensitivity. *Nature* 1983; 306: 686-8.
17. Sivilotti LG, Woolf CJ: The contribution of GABAA and glycine receptors to central sensitization: disinhibition and touch-evoked allodynia in the spinal cord. *J Neurophysiol* 1994; 72: 169-79.
18. Malcangio M, Bowery NG: GABA and its receptors in the spinal cord. *Trends Pharmacol Sci* 1996; 17: 457-62.
19. Ibuki T, Hama AT, Wang XT, Pappas GD, Sagen J: Loss of GABA-immunoreactivity in the spinal dorsal horn of rats with peripheral nerve injury and promotion of recovery by adrenal medullary grafts. *Neuroscience* 1997; 76: 845-58.
20. Eaton MJ, Plunkett JA, Karmally S, Martinez MA, Montanez K: Changes in GAD- and GABA- immunoreactivity in the spinal dorsal horn after peripheral nerve injury and promotion of recovery by lumbar transplant of immortalized serotonergic precursors. *J Chem Neuroanat* 1998; 16: 57-72.
21. Castro-Lopes JM, Malcangio M, Pan BH, Bowery NG: Complex changes of GABAA and GABAB receptor binding in the spinal cord dorsal horn following peripheral inflammation or neurectomy. *Brain Res* 1995; 679: 289-97.
22. Sugimoto T, Bennett GJ, Kajander KC: Transsynaptic degeneration in the superficial dorsal horn after sciatic nerve injury: effects of a chronic constriction injury, transection, and strychnine. *Pain* 1990; 42: 205-13.
23. Moor KA, Kohno T, Karchewski LA, Schilz J, Baba H, Woolf CJ: Partial peripheral nerve injury promotes selective loss of GABAergic inhibition in the superficial dorsal horn of the spinal cord. *J Neurosci* 2002; 22: 6724-31.
24. Polgar E, Gray S, Riddell JS, Todd AJ: Lack of evidence for significant neuronal loss in laminae I-III of the spinal dorsal horn of the rat in the chronic constriction injury model. *Pain* 2004; 111: 144-50.
25. Polgár E, Hughes DI, Riddell JS, Maxwell DJ, Puskár Z, Todd AJ: Selective loss of spinal GABAergic or glycinergic neurons is not necessary for development of thermal hyperalgesia in the chronic constriction injury model of neuropathic pain. *Pain* 2003; 104: 229-39.
26. Fukuoka T, Tokunaga A, Kondo E, Miki K, Tachibana T, Noguchi K: Change in mRNAs for neuropeptides and the GABA(A) receptor in dorsal root ganglion neurons in a rat experimental neuropathic pain model. *Pain* 1998; 78: 13-26.
27. Malan TP, Mata HP, Porreca F: Spinal GABA(A) and GABA(B) receptor pharmacology in a rat model of neuropathic pain. *Anesthesiology* 2002; 96: 1161-7.
28. Hwang JH, Yaksh TL: The effect of spinal GABA receptor agonists on tactile allodynia in a surgically-induced neuropathic pain model in the rat. *Pain* 1997; 70: 15-22.
29. Desarmenien M, Feltz P, Occhipinti G, Santangelo F, Schlichter R: Coexistence of GABA_A and GABA_B receptors on A delta and C primary afferents. *Br J Pharmacol* 1984; 81: 327-33.
30. Rudomin P, Schmidt RF: Presynaptic inhibition in the vertebrate spinal cord revisited. *Exp Brain Res* 1999; 129: 1-37.
31. Sung KW, Kirby M, McDonald MP, Lovinger DM, Delpire E: Abnormal GABA_A receptor-mediated currents in dorsal root ganglion neurons isolated from Na-K-2Cl cotransporter null mice. *J Neurosci* 2000; 20: 7531-8.
32. Willis WD Jr: Dorsal root potentials and dorsal root reflexes: a double-edged sword. *Exp Brain Res* 1999; 124: 395-421.
33. Teoh H, Malcangio M, Bowery NG: GABA_A, glutamate and substance P-like immunoreactivity release: effects of novel GABA_B antagonists. *Br J Pharmacol* 1996; 118: 1153-60.
34. Bowery NG: GABA_B receptor pharmacology. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1993; 33: 109-47.