

척수손상 후 척수 내 Iontropic Glutamate 수용기 활성화가 중추 신경병증성 통증 유발에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 생리학교실, *마취과학교실

곽영섭 · 심 범 · 윤덕미* · 남택상 · 백광세 · 임중우

= Abstract =

Involvement of Iontropic, rather than Metabotropic, Glutamate Receptors in Hyperexcitability of Spinal Dorsal Neurons Induced after Spinal Cord Injury

Young Seob Gwak, Ph.D., Beom Shim, Ph.D., Duck Mi Yoon, M.D.*, Taick Sang Nam, M.D.,
Kwang Se Paik, M.D., and Joong Woo Leem, Ph.D.

Departments of Physiology and *Anesthesiology,
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Spinal cord injury (SCI) induces the development of central neuropathic pain which is characterized by symptoms such as allodynia, hyperalgesia, and spontaneous pain. However, the underlying mechanism is not fully understood. This study was conducted to see if activation of the glutamatergic system in the spinal dorsal horn is involved in the development of central pain following SCI.

Methods: SCI was induced by a hemisection of the spinal cord at T13 in adult, male, Sprague-Dawley rats. Mechanical allodynia was tested by measuring paw withdrawal frequency in response to repeated applications of a von Frey hair to the plantar surface of the hind paw. Single neuronal activity of dorsal horn neurons (L4-L6) was recorded extracellularly using a carbon filament-filled glass microelectrode (2-4 M Ω). The drugs were intrathecally and topically administered on the spinal surface for behavioral and electrophysiological study, respectively.

Results: After left spinal hemisection at T13, behavioral signs of mechanical allodynia developed on both hind limbs and the responsiveness of spinal dorsal horn neurons increased on both sides of the spinal dorsal horn. Iontropic glutamate receptor antagonists including MK-801 (NMDA receptor antagonist) and NBQX (non-NMDA receptor antagonist) suppressed mechanical allodynia and increased responsiveness on both hind paws. Metabotropic glutamate receptor antagonist MCPG, however, had no significant effect.

Conclusions: These results indicate that activation of the ionotropic, but not metabotropic, glutamatergic system in the spinal cord plays a key role in the development of central pain following SCI.

Key Words: Central pain, MCPG, MK-801, NBQX, Spinal cord injury

책임저자 : 임중우, 서울시 서대문구 신촌동 132, 연세대학교 의과대학 생리학교실, 우편번호: 120-752

Tel: 361-5195, Fax: 393-0203, E-mail: jwleem@yumc.yonsei.ac.kr

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(1999-2-21300-004-3)지원으로 수행되었음.

서 론

말초의 신경 손상은 신경병증성 통증을 유발한다. 신경병증성 통증은 손상 부위가 어디인가에 따라 말초 또는 중추 신경병증성 통증으로 구분되는데, 말초신경이나 신경근의 손상은 말초 신경병증성 통증을, 그리고 척수를 포함하는 중추신경계의 손상은 중추 신경병증성 통증을 유발한다. 이들 신경병증성 통증에는 공통적인 증상들이 관찰되는데, 정상에서는 통증을 유발하지 않는 약한 자극에 의하여 유발되는 통증인 이질통(allodynia), 정상적인 통증을 유발하는 강도의 자극에 의하여 유발되는 더 큰 강도의 통증인 통증과민(hyperalgesia), 그리고 외부의 자극 없이 생성되는 자발적 통증(spontaneous pain) 등이 포함된다.¹⁻³⁾ 척수손상은 중추 신경병증성 통증의 대표적인 원인으로 알려져 있으나, 병태생리학적 기전에 대한 연구는 미미한 실정이다. 최근에는 척수손상 환자에서 자주 관찰되는 이질통, 통증과민, 그리고 자발적 통증과 유사한 통증행동을 보이는 여러 실험동물이 개발되어 이를 이용하여 척수손상에 의한 중추 신경병증성 통증의 기전을 밝히기 위한 연구가 시도되기 시작하고 있다.

정상적인 경우에 척수 내 통증 정보 처리과정에서 일차 구심섬유 말단에서 유리되는 glutamate와 같은 흥분성 신경전달물질이 관여하는 잘 알려진 사실이다.⁴⁾ 척수 내에는 glutamate의 여러 수용기 아형인 ionotropic glutamate 수용기(iGluR)인 NMDA 및 non-NMDA 수용기, 그리고 G-protein 및 세포 내 2차 전달계와 관련있는 metabotropic glutamate 수용기(mGluR)가 일차 구심섬유의 입력신호를 받는 척수의 laminae I-III에 분포함이 확인되었다.^{5,6)} 따라서, 척수 내에서 일차 구심섬유 말단으로부터 유리된 glutamate가 통증신호 전달에 관여하며 이들 구심섬유가 중지 하는 척수후각에 glutamate 수용기가 존재한다는 사실은 glutamate 수용기가 생리적인 환경에서 통증 조절에 관여할 가능성을 시사해 준다. 한편, 척수 내 glutamate 수용기의 활성화가 말초 신경손상 후 유발되는 신경병증성 통증의 중요한 요인이 될 수 있음이 제안되었다. 즉, 말초신경 손상 후 척수의 양쪽에서 NMDA 수용기의 과도한 활성화가 유발됨이 관찰되었고,⁷⁾ 말초신경 손상 후 유발된 신경병증성

통증과 유사한 통증행동이 수막강내로 주입한 glutamate 수용기 길항제에 의해 억제됨이 보고되었다.⁸⁾ 이들 결과는 NMDA 수용기의 과도한 활성화가 말초 신경병증성 통증 유발에 중요한 역할을 할 것임을 시사한다. 또한 전기신경생리학적 연구 결과에 의하면, 말초 신경병증성 통증행동을 보이는 동물모델의 척수 내 후각신경세포의 반응도에서 유해자극에 의해 유발된 반응은 NMDA 수용기 길항제에 의하여 억제되는 반면에 무해자극에 의해 유발된 반응은 non-NMDA 수용기 길항제에 의하여 억제됨이 관찰되었다.⁹⁾ 말초신경 손상 후 초기에 수막강으로 주입한 mGluR 길항제가 이질통 유사 행동 유발을 억제한다는 보고도 있다.¹⁰⁾ 따라서, 말초 신경병증성 통증 유발에는 척수 내 glutamate 수용기 아형 모두가 관여하는 것으로 생각할 수 있다. 그러나, 척수손상에 의한 중추 신경병증성 통증 유발에 glutamate 수용기 아형이 어떻게 관여하는지에 관해서는 아직 밝혀지지 않고 있다.

말초신경 손상 후 유발되는 말초 신경병증성 통증의 유발 원인은 전기신경생리학적, 행동학적, 그리고 형태학적인 연구 등 많은 연구 보고에 의하여 비교적 자세히 알려져 있다. 하지만, 척수손상 후 유발되는 중추 신경병증성 통증에 관해서는 아직 연구가 미진하게 이루어지고 있는 실정이다. 본 연구는 척수손상 후 유발되는 중추 신경병증성 통증에 척수 내 glutamate 수용기의 활성이 관여하는지를 척수의 반절단(hemisection) 모델을 이용하여 행동학적 실험과 신경생리학적 실험으로 조사하였다.

대상 및 방법

척수손상 동물 모델 제작

척수손상은 Christensen 등의 방법¹¹⁾ 따라 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley, 무게 200-250 g)를 사용하여 제13흉수 왼쪽을 반절단하였다. Enflurane (Gerolan™, 유도 3%, 유지 2%)으로 마취시킨 뒤 흉추 제11과 12번 부위를 척수후궁절제술(laminectomy)을 하여 척수를 노출시키고 미세절단칼을 이용하여 척수의 제13흉수 왼쪽 부위를 절단한 뒤 28 gauge 주사바늘을 사용하여 척수의 중심부에서 배측에서 복측으로 삽입한 다음 외측으로 당겨 완전히 반절단하였다(Fig. 1). 행동학적 실험을 위한 수막강 내 약물의 주입을

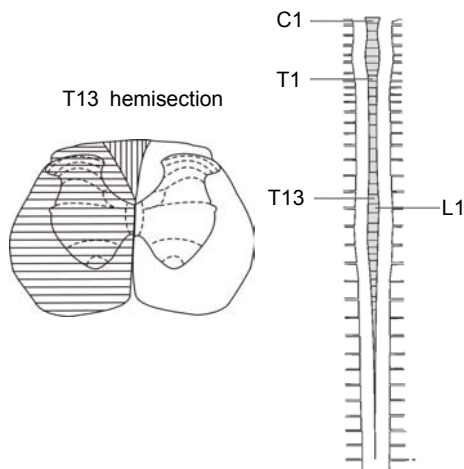


Fig. 1. A schematic diagram of the extent of the surgical lesion to the T13 spinal cord. The horizontal and vertical lines represent the minimum and maximum lesioned areas by hemisection, respectively. C: cervical, T: thoracic, L: lumbar segments of spinal cord.

위해 enflurane (유도 3%, 유지 2%) 마취하에 폴리에틸렌관(PE-10, Becton Dickson and Company, USA)을 연수의 대조(cisterna magna) 부분에서 만든 구멍을 통하여 삽입하여 수막 하부의 수막강을 통하여 제3 요수 지역에 도달하도록 하였다.

행동학적 실험

척수손상 후 통증 유발을 확인하기 위한 행동학적 실험은 정상적으로는 통증을 유발하지 못하는 약한 기계적 자극(von Frey hair, 2.0 g)에 대한 회피반응을 측정하였다. 철망(0.5 × 0.5 cm 격자) 위에 투명한 아크릴 상자(8 × 8 × 24 cm)를 올려놓은 뒤 각 실험동물을 넣고 30분간 적응시킨 후 von Frey hair를 쥐 뒷발의 발바닥에 10초 간격으로 10번을 자극하여 회피반응 빈도를 측정하였다. 수막강 내 약물 주입 후 행동학적 실험은 약물 주입 후 30분, 60분, 120분, 180분 간격으로 측정하였다. 수막강 내 주입용 glutamate 수용기 길항제로는 NMDA 수용기 길항제인 MK-801 [(5R, 10S)-(+)-5-Methyl-10, 11-dihydro-5H-dibenzo(a,d) cyclohepten-5, 10-imine, 50µg/kg, Tocris, UK], non-NMDA 수용기 길항제인 NBQX (6-nitro-7-sulfamoylbenzo(f)quinoxaline-2,3-dione, 50µg/kg,

Tocris, UK), 그리고 metabotropic glutamate 수용기 길항제인 MCPG ((+)-alpha-methyl-4-carboxyl-phenylglycine, 100µg/kg, Tocris, UK)를 사용하였다. 각 약물은 10µl을 주입하였으며 주입 후 동량의 생리식염수로 폴리에틸렌관(PE-10)을 씻어 주었다.

전기신경생리학적 실험

요수 내 후각신경세포 반응도는 세포외기록법(extracellular recording)으로 조사하였다. Pentobarbital sodium (40 mg/kg)을 쥐의 복강내에 투여하여 마취시키고 약물주입을 위해 경정맥을 확보하고 인공호흡을 위해 기관에 삽관하였다. 배측 피부를 절개한 후 제12흉추에서 제4요추까지 척추후궁절제술을 시행하여 요수 부위를 노출시킨 뒤 머리와 척추를 정위고정대(stereotaxic frame)에 복외위로 고정하고 pancuronium bromide (pancuronium bromide™, 0.5 mg/kg/h, i.v.)을 주사해 근마비시킨 후 인공호흡기(CWE Inc, Ardmore, PA, USA)로 호흡시켰다. 인공호흡은 carbon dioxide analyzer (CWE Inc, USA)를 이용해 end-tidal CO₂ 농도가 3.5-4.5%로 유지되도록 조절하였으며 직장 내 온도는 homeothermic blanket control unit (Harvard Apparatus Inc, USA)를 이용해 37 °C로 유지하였다. 요수 내 후각신경세포 반응도 기록은 통증 전달에 관여하는 것으로 알려진 WDR 신경세포를 대상으로 하여 기록하였다. 일련의 자극을 주었을 때 자극 강도가 증가할수록 신경세포 반응도가 증가하는 세포를 wide dynamic range (WDR) 신경세포로 분류하였다. 측정부위인 요수 후각의 L4-L6 부위에 미세위치조절기(Narishige, Japan)를 이용하여 기록용 전극을 요수 후각 내로 삽입하면서(150-850µm) 말초의 수용야에 기계적 자극(brush, pressure, pinch)을 가하여 방전되는 임펄스를 증폭기를 거쳐 오실로스코프상에 나타내어 window discriminator (WPI, USA)를 이용하여 단일 신경세포를 분리하였다. 신경세포가 분리되면 각기 10초간 자극하면서 신경세포 반응을 자료수집기(CED, UK)를 거친 후 컴퓨터에 입력시키고 방전수분석 프로그램(spike 2 program)을 이용하여 분석하였다. 요수 내 후각신경세포의 반응도 기록에 약물의 첨가는 행동학적 실험 방법으로 사용된 수막강 내로의 주입을 모방하는 방법으로서, 노출된 요수의 표면에 약물을 떨어뜨리는 방법을 사용하였다. 사용된 약물은 MK-801 (50

µg/kg), NBQX (50µg/kg), MCPG (100µg/kg)을 사용하였다.

통계처리

모든 통계처리의 유의성 기준은 P 수준 0.05 미만

으로 하였다. 자료의 통계 분석은 통계프로그램(Sigma-Stat software)을 이용하여 rank-sum test (요수 내 후각신경세포 활성도의 경우)와 sign-rank test (약물처리 효과의 경우)를 시행하였다. 결과는 평균 ± 표준오차로 나타내었다.

결 과

제13흉수 반절단에 의해 유도된 통증행동 및 요수 내 후각신경세포 반응도 변화

척수의 제13흉수 부위에서 척수를 반절단 한 후 정상적으로는 회피반응을 보이지 못하는 약한 기계적 자극(von Frey hair, 2.0 g)에 회피반응을 보이는 이질통 유사 통증행동(mechanical allodynia)이 손상 받은 쪽(ipsilateral) 뒷발과 손상 받지 않은 쪽(contralateral) 뒷발 모두에서 관찰되었다(Fig. 2). 제13흉수 반절단 이전에 3% (손상 측) 및 5% (손상 반대 측)의 회피반응 빈도를 보이던 것이 반절단 이후에는 손상 측은 45%, 손상 반대측은 49%로 회피반응 빈도가 유의하게 증가하였다(P<0.05). 증가된 회피반응 빈도는 제13흉수 반절단 후 11일이 경과한 후부터 기록되었으며 실험 기간 내 유지되었다. 이와 같은 결과는 정상상태에서는 통증행동을 유발시키지 못하는 약한 강도의 기계적 자극이 척수손상 후에는

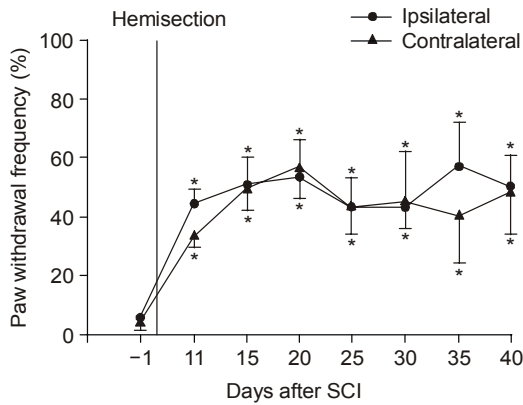


Fig. 2. The time course of development of mechanical allodynia after spinal hemisection (spinal cord injury, SCI). Although spinal hemisection was done by only left side at T13, the mechanical allodynia developed on both sides of hind paws and lasted entire test periods (n = 7). *P < 0.05 as compared with values prior to hemisection (day-1).

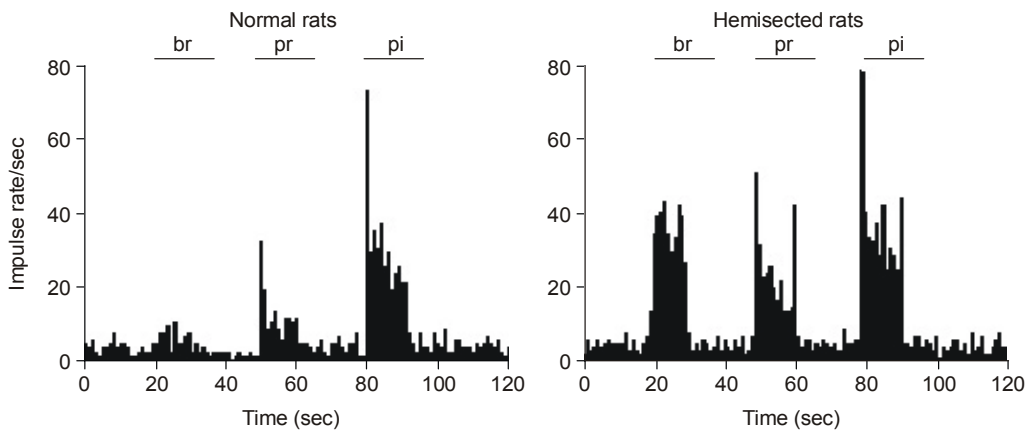


Fig. 3. Typical examples of the responses of dorsal horn neurons to three consecutive mechanical stimuli (brush, pressure, pinch) in normal and hemisected rats. This histogram represents the responses pattern of dorsal horn neurons to mechanical stimuli as action potential frequency. A comparison of mechanically evoked response between normal and hemisected rats shows a significant enhancement of responses of all three mechanical stimuli in hemisected rats. br: brush, pr: pressure, pi: pinch stimuli.

통증 유발 자극으로 인식되었음을 의미한다.

제13흉수 반절단 후 이질통 유사 통증행동을 보이는 동물을 대상으로 하여 말초 수용장에 가해진 일련의 기계적 자극(brush, pressure, pinch)에 대한 요수 내 후각신경세포 반응도 변화를 WDR 신경세포에서

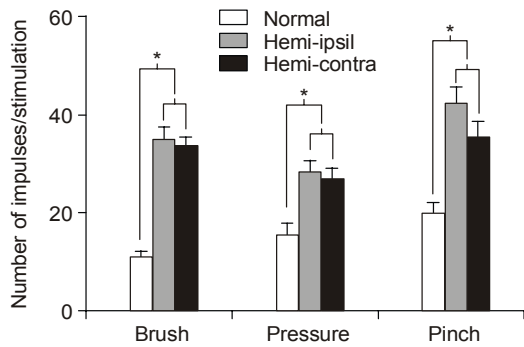


Fig. 4. Comparisons of mechanical responsiveness of WDR neuron in dorsal horn neurons between normal and hemisected rats. As compared with normal rats, mechanical responsiveness of WDR neurons on both sides of lumbar spinal cord dorsal horns in hemisected rats were significantly increased to all stimuli on both sides. * $P < 0.05$ as compared with values of normal rats.

관찰하였다(Fig. 3). 제13흉수 반절단 후 손상 받은 측뿐만 아니라 손상 반대측 요수 내 WDR 신경세포도 말초의 수용장에 가해진 기계적 자극(brush, pressure, pinch 자극)에 대한 반응도가 증가함을 보였다. Brush 자극에 대해서는 정상군의 WDR 신경세포 반응도는 11.1 ± 1.2 spikes/sec ($n = 22$)을 보였으나, 제13흉수 반절단을 받은 손상 측과 손상 반대측은 35.1 ± 2.3 spikes/sec ($n = 35$)과 33.7 ± 1.9 spikes/sec ($n = 38$)의 반응도를 보여 제13흉수 반절단 후 요수의 양측에서 brush 자극에 대해 WDR 신경세포 반응도가 유의하게 증가됨이 관찰되었다. 또한 pressure 자극(정상군: 15.5 ± 2.4 , 손상 측: 28.3 ± 2.3 , 손상 반대측: 27 ± 2.0 spikes/sec) 및 pinch 자극(정상군: 19.9 ± 2.1 , 손상 측: 42.3 ± 3.3 , 손상 반대측: 35.4 ± 3.1 spikes/sec) 모두 양측의 요수 내 WDR 신경세포 반응도가 유의하게 증가함을 보였다 (Fig. 4, $P < 0.05$). 이와 같은 결과는 척수손상 후 무해한 자극뿐만 아니라 유해한 자극에 대해서도 요수 내 후각신경세포 반응도가 항진되었음을 의미한다. 요수 내 WDR 신경세포의 기록은 행동학적 실험에 의해 회피반응이 증가되어 있는 기간 동안에 기록하였다.

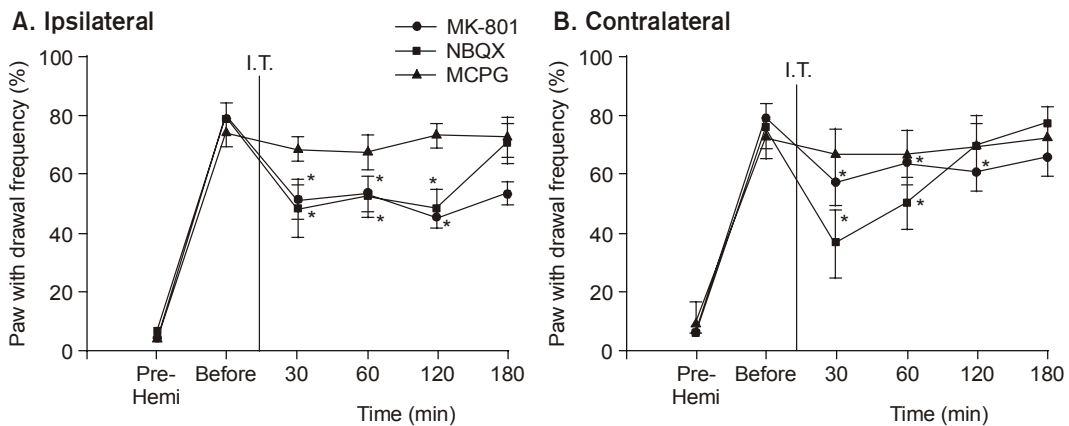


Fig. 5. The effect of intrathecal injection of glutamatergic receptor antagonists on mechanical allodynia. The paw withdrawal frequency increased after spinal hemisection (indicated as Before) as compared with values of pre-hemisection (Pre-Hemi). This increased paw withdrawal frequency was attenuated by administration of MK-801 ($50\mu\text{g/kg}$, $n = 13$) and NBQX ($50\mu\text{g/kg}$, $n = 5$) on both ipsilateral (A) and contralateral (B) hind paws. However, MCPG ($100\mu\text{g/kg}$, $n = 7$) did not show a significant difference. I.T.: intrathecal injection. * $P < 0.05$ as compared with values prior to drug injection (values at Before).

요수에 가해진 glutamate 수용기 길항제가 척수 손상 유도 통증행동과 요수 내 후각신경세포 반응도 향진에 미치는 영향

행동학적 실험: 제13흉수 반절단 후 양측 뒷발에서 관찰된 이질통 유사 통증행동에 척수 내 glutamate 수용기의 활성화가 관여되어 있는지를 알아보기 위해 MK-801 (50µg/kg), NBQX (50µg/kg), 그리고 MCPG (100µg/kg)를 각기 10µl를 수막강 내로 주입하였다. 행동학적 실험은 약물 주입 후 30분, 60분, 120분 그리고 180분 경과 후에 회피반응 빈도 변화를 측정하였다. MK-801은 손상 측에서 회피반응 빈도를 79%에서 50%로, 손상 반대측에서는 80%에서 57%로 유의하게 감소시켰다(P < 0.05). NBQX는 손상 측에서 회피반응 빈도를 80%에서 48%로,

손상 반대측에서 76%에서 36%로 유의하게 감소시켰다(P < 0.05). 하지만, MCPG의 수막강 내 주입은 손상 측과 손상 반대 측 모두 유의있는 감소 효과를 나타내지 않았다(Fig. 5). 이와 같은 결과는 제13흉수 반절단 후 관찰되는 이질통 유사 통증행동에는 척수 내 ionotropic glutamate 수용기의 활성화가 관여한다는 것을 의미한다.

전기신경생리학적 실험: 제13흉수 반절단 후 이질통 유사 통증행동을 보이는 대상에서 관찰된 요수 내 WDR 신경세포 반응도 증가에 척수 내 glutamate 수용기의 활성화가 관여되어 있는 지를 알아보았다. 행동학적 실험에서 사용된 동일 약물인 MK-801과 NBQX, 그리고 MCPG 50µl를 요수 표면에 떨어뜨려 WDR 신경세포 반응도 변화를 살펴보았다.

요수 표면에 첨가해준 MK-801은 제13흉수 반절단

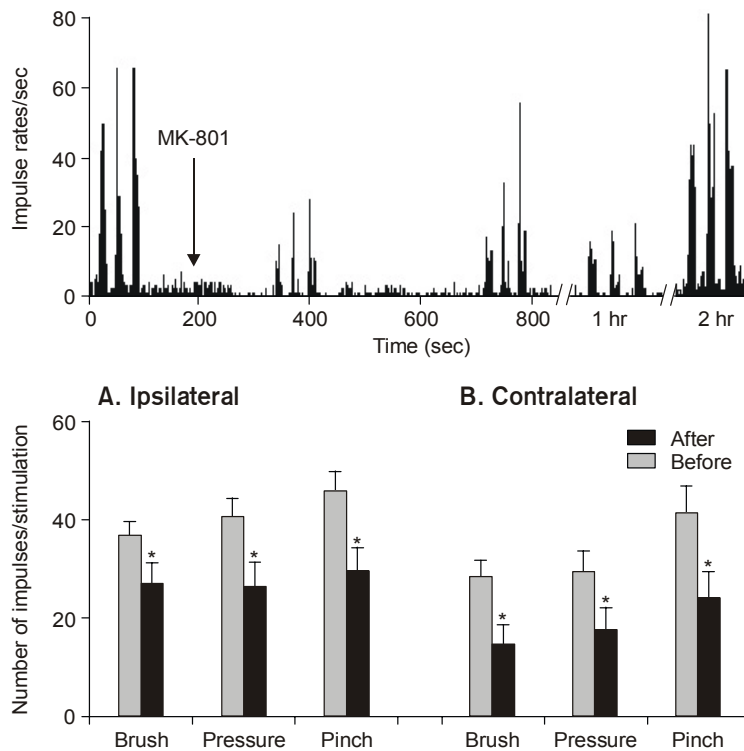


Fig. 6. The effects of MK-801 to mechanical responsiveness of dorsal horn neurons in rats with hemisection. The increased mechanical responsiveness of dorsal horn neurons in rats with hemisection was attenuated by topical application onto spinal surface of MK-801 (50µg/kg, n = 13) on both ipsilateral (A) and contralateral (B) spinal cord. *P < 0.05 as compared with values prior to drug injection (Before).

후 증가된 WDR 신경세포 반응도를 의의있게 감소시켰으며 약물 첨가 후 2분 후부터 1시간 정도 감소효과가 지속되었다(Fig. 6, $P < 0.05$). 제13흉수 반절단이 이루어진 손상 측의 경우 brush 반응에 대한 신경세포 반응도는 MK-801 처리 전에 36.9 ± 2.8 spikes/sec를 보이던 반응도가 MK-801 처리 후에 27.3 ± 3.9 spikes/sec ($n = 6$)로, 손상 반대측 측의 경우에는 28.4 ± 3.2 spikes/sec이었던 것이 14.4 ± 4.1 spikes/sec로 유의하게 감소하였다($n = 6$). Pressure와 pinch 자극에 대한 신경세포 반응도 역시 손상 측과 손상 반대측 모두 유의하게 감소되었다. 또한, 요수 표면에 첨가해 준 NBQX도 제13흉수 반절단 후 증가된 WDR 신경세포 반응도를 의의있게 감소시켰으며 약물 첨가 후 2분 후부터 2시간 정도 감소효과가 지속되었다(Fig. 7, $P < 0.05$). 제13흉수

반절단이 이루어진 손상 측의 경우 brush 반응에 대한 신경세포 반응도는 NBQX 처리 전에 27.2 ± 5.7 spikes/sec이었던 반응도가 NBQX 처리 후에 7.0 ± 4.9 spikes/sec ($n = 4$)로, 손상 반대측의 경우에는 24.7 ± 3.1 spikes/sec이었던 것이 1.2 ± 0.9 spikes/sec로 유의하게 감소하였다($n = 5$). Pressure와 pinch 자극에 대한 신경세포 반응도 역시 손상 측과 손상 반대 측 모두 유의하게 감소되었다($P < 0.05$). 하지만, 요수 표면에 첨가해준 MCPG는 제13흉수 반절단 후 증가된 WDR 신경세포 반응도를 의의있게 감소시키지 못하였다(Fig. 8). 제13흉수 반절단이 이루어진 손상 측의 경우 brush 반응에 대한 신경세포 반응도는 MCPG 처리 전에 18.6 ± 5.0 spikes/sec이었던 반응도가 MCPG 처리 후에 19.5 ± 8.1 spikes/sec로 유의한 변화를 보이지 못하였으며($n = 3$), 손

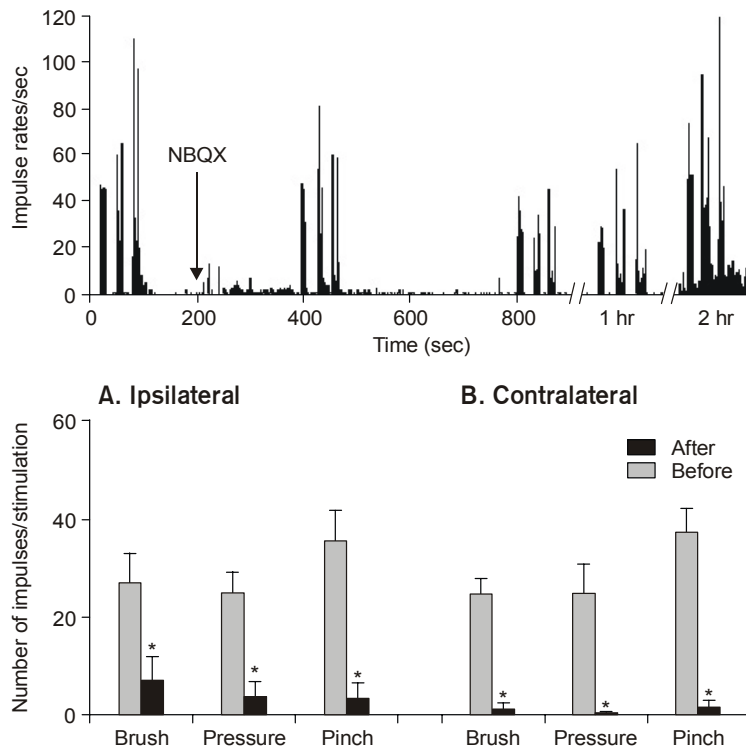


Fig. 7. The effects of NBQX to mechanical responsiveness of dorsal horn neurons in rats with hemisection. The increased mechanical responsiveness of dorsal horn neurons in rats with hemisection was attenuated by topical application onto spinal surface of NBQX ($50\mu\text{g/kg}$, $n = 5$) on both ipsilateral (A) and contralateral (B) spinal cord. * $P < 0.05$ as compared with as compared with values prior to drug injection (Before).

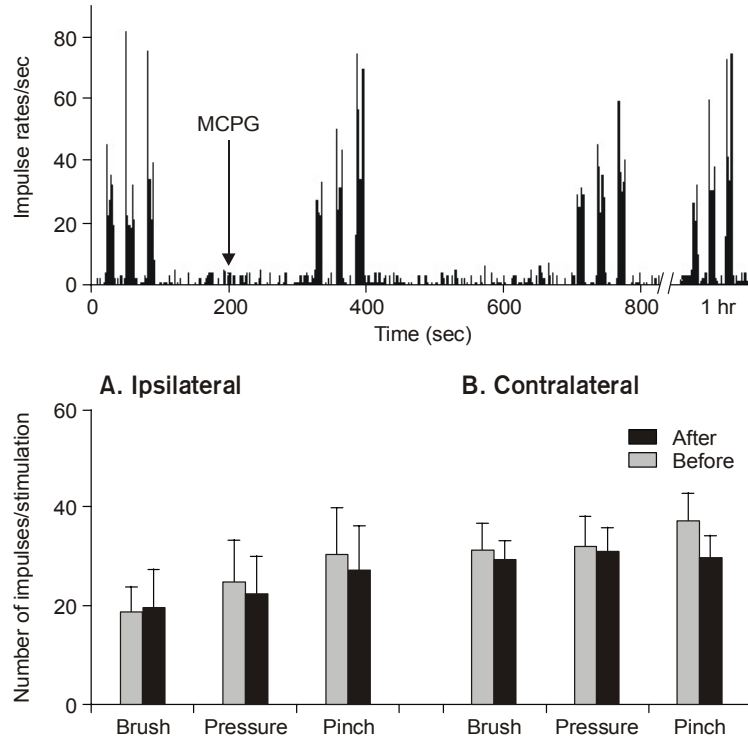


Fig. 8. The effects of MCPG to mechanical responsiveness of dorsal horn neurons in rats with hemisection. The increased mechanical responsiveness of dorsal horn neurons in rats with hemisection did not affected by topical application of MCPG (100µg/kg, n = 7) onto spinal surface on both ipsilateral (A) and contralateral (B) spinal cord.

상 반대측의 경우에도 31.4 ± 5.4 spikes/sec이었던 반응도가 29.3 ± 3.9 spikes/sec로 유의한 감소를 나타내지 못하였다(n = 3). Pressure와 pinch 자극에 대한 신경세포 반응도 역시 손상 측과 손상 반대측 모두 유의한 감소를 나타내지 못하였다.

고 찰

본 실험 결과에 의하면 제13흉수 반절단(제13흉수 수준)에 의한 척수손상 후 생성되는 이질통 유사 통증행동이 수막강 내로 주입된 NMDA 수용기 길항제인 MK-801과 non-NMDA 수용기 길항제인 NBQX에 의하여 완화되었다. 이는 척수에 허혈성 손상(ischemic injury)을 가해준 후 유발된 이질통 유사 통증행동이 복강 내로 주입된 NMDA 및 non-NMDA 수용기 길항제에 의해 완화된다는 보고와¹²⁾ 일치됨

을 보인다. 이들 실험 결과로 미루어 볼 때 중추신경계 손상에 의해 유발되는 신경병증성 통증은 그 손상의 종류에 관계없이 척수 내 ionotropic glutamate 수용기인 NMDA와 non-NMDA 수용기의 활성화가 중요한 역할을 할 것임을 추측할 수 있다. 또한 본 실험에서는 이질통 유사 통증행동을 보이는 동물에서 요수 내 후각신경세포 반응도가 증가되어 있었으며 이러한 증가는 요수 표면에 점적된 NMDA와 non-NMDA 수용기 길항제에 의해 억제됨을 관찰하였다. 따라서 본 연구에서는 척수손상 후 유발되는 신경병증성 통증의 관리를 위한 ionotropic glutamate 수용기의 길항제의 활용 가능성에 관한 행동학적 및 전기신경생리학적 실험 증거를 제시해 준다.

그러나 제13흉수 반절단 후 관찰되는 이질통 유사 통증행동 및 증가된 요수 내 후각신경세포 반응도는 metabotropic glutamate (mGlu) 수용기 길항제인 MCPG

에 의해 영향을 받지 않음을 관찰하였다. 이와 유사하게, 말초 신경병증성 동물모델에서 mGlu 수용기 길항제가 이질통 유사 통증행동을 감소시키지 못함이 보고되었다.^{13,14)} 이러한 결과들로 미루어 보아 척수손상에 의한 중추 신경병증성 통증과 말초 신경손상에 의한 말초 신경병증성 통증에 mGlu 수용기가 관여하지 않을 것으로 생각할 수 있다. 하지만, 염증 매개물에 의해 유발되는 염증성 통증의 경우에는 mGlu 수용기 길항제에 의한 통증 완화가 일관되게 관찰되는데,¹⁵⁻¹⁷⁾ 이는 염증성 통증에 mGlu 수용기가 관여할 것임을 시사한다. 따라서 mGlu 수용기는 신경손상에 의해서는 활성화되지 않으며 염증과정에서 활성화될 것으로 추측할 수 있다.

본 실험결과는 제13흉수 반절단 후 관찰된 이질통 유사 통증행동 및 요수 내 후각신경세포 반응도 증가의 중요한 요인으로서 요수 내 ionotropic glutamate 수용기의 활성화와 억제성 중간신경세포의 소실을 제시한다. 이런 변화는 손상 측과 손상 반대측의 요수 모두에서 관찰되었다. 손상받은 측의 요수에서 관찰된 증가된 신경세포 반응도 및 이질통 유사 통증행동은 척수 내 억제성 중간신경세포의 소실로 인해 유발되는 것으로 생각할 수 있다. 척수 내 억제성 중간신경세포는 일차 구심섬유의 말단 및 이차 감각신경의 세포체나 수상돌기와 시냅스로 연결되어¹⁸⁻²⁰⁾ 말초에서 들어오는 자극에 대해 억제성으로 작용하는데, 그 일부는 고위 중추에서 내려오는 하행성 경로와 시냅스로 연결될 수 있다. 이 경우, 제13흉수의 반절단은 하행성 신경의 축삭이 손상되어 그 결과 손상방전(injury discharge)이 생성되고 이는 척수 내에서 시냅스된 억제성 중간신경세포에 과도한 신경활동을 전달해주고 궁극적으로는 흥분독성(excitotoxicity)을 통한 괴사를 초래하여 억제성 중간신경세포의 소실을 가져올 것이라고 생각할 수 있다. 이들 억제성 중간신경세포의 감소에 의해 척수 내에서 억제성 기능이 없어지는 소위 탈억제(disinhibition)가 이루어져 손상 측 말초로부터 입력되는 통증정보는 증폭되어 고위중추로 전달되게 될 것이다.

한편, 손상받지 않은 측의 요수에서도 억제성 중간신경세포의 소실이 있을 수 있다. 이 경우는 척수 내에 존재하는 척수의 좌측과 우측을 연결해주는 연결성(commisural connection) 중간신경세포가 중요한 역할을 할 것으로 생각할 수 있다.²¹⁾ 즉 제13흉수

반절단에 의해 어떠한 원인으로든 손상 측 요수에 위치하는 이들 연결성 중간신경세포의 세포체에서 비정상적으로 과다하게 신경방전을 생성하게 되면 이는 반대측 척수에서 시냅스로 연결된 억제성 중간신경세포의 사멸을 야기할 수 있을 것이다. 이러한 과정을 통하여 결국 손상 반대측의 억제성 중간신경세포 역시 소실되며 그 결과 중간신경세포의 억제가 제거되면서 손상 반대측 말초로부터 입력되는 통증정보가 증폭되어 고위중추로 전달되게 될 것이다. 이때 증폭된 통증정보는 통증정보 경로로 잘 알려진 척수시상로(spinothalamic tract)를 통하여 반대측인 손상 측 시상을 통하여 고위중추로 전달되어야 하나 이 신경경로는 흉수의 반절단에 의하여 이미 차단된 상태이다. 따라서 이 경우 증폭된 통증정보가 고위중추로 전달될 수 있는 경로는 손상 반대측 척수를 통해야만 할 것이다. 가능한 신경경로는 손상 반대측 요수 후각(dorsal horn)에 세포체가 있으면서 그 축삭이 동측의 등외측섬유단(dorsolateral funiculus)을 따라 경수의 측경핵(lateral cervical nucleus) 부위로 투사하는 척수경로(spinothalamic tract)를 통해 반대편 시상으로 전달되는 경우와,^{22,23)} 손상 반대측 요수에서 동측의 제13흉수 위부분까지를 연결해주는 척수 고유경로(propriospinal pathways)를²¹⁾ 통해 반대편 시상으로 전달되는 경우를 생각해 볼 수 있다.

결론적으로, 본 실험에서는 제13흉수의 반절단에 의한 이질통 유사 통증행동과 요수 내 후각신경세포 반응도 증가의 유발에 있어서 요수 내 NMDA 및 non-NMDA 수용기와 같은 ionotropic glutamate 수용기의 활성화가 중요하게 공헌할 것임을 밝혔다. 이는 척수손상에 따른 신경병증성 통증의 관리를 위하여 ionotropic glutamate 수용기 길항제의 활용 가능성에 관한 실험적 근거를 제공해 준다.

참 고 문 헌

1. McMahon SB: Mechanism of sympathetic pain. Br Med Bull 1991; 47: 584-600.
2. Sato J, Perl ER: Adrenergic excitation of cutaneous pain receptors induced by peripheral nerve injury. Science 1991; 251: 1608-10.
3. Seltzer Z, Shir Y: Sympathetically-maintained causalsiform disorders in a model for neuropathic pain: a review. J Basic Clin Physiol Pharmacol 1991; 2:

- 17-61.
4. Dougherty PM, Palecek J, Paleckova V, Sorkin LS, Willis WD: The role of NMDA and Non-NMDA excitatory amino acid receptors in the excitation of primate spinothalamic tract neurons by mechanical, chemical, thermal, and electrical stimuli. *J Neurosci* 1992; 12: 3025-41.
 5. Tao Y, Li Y, Zhao Z, Johns RA: Synaptic relationship of the neurons containing a metabotropic glutamate receptor, mGluR5, with nociceptive primary afferent and GABAergic terminals in rat spinal superficial laminae. *Brain Res* 2000; 875: 138-43.
 6. Dingedine R, Boges K, Bowie D, Traynelis SF: The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol Rev* 1999; 51: 7-61.
 7. 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.
 8. Lee YW, Yaksh TL: Analysis of drug interaction between intrathecal clonidine and MK-801 in peripheral neuropathic pain rat model. *Anesthesiology* 1995; 82: 741-8.
 9. Leem JW, Choi EJ, Park ES, Pail KS: N-methyl-D-aspartate (NMDA) and non-NMDA glutamate receptor antagonists differentially suppress dorsal horn neuron responses to mechanical stimuli in rats with peripheral nerve injury. *Neurosci Lett* 1996; 211: 37-40.
 10. Fisher K, Fundytus ME, Cahill CM, Coderre TJ: Intrathecal administration of the mGluR compound, (S)-4CPG, attenuates hyperalgesia and allodynia associated with sciatic nerve constriction injury in rats. *Pain* 1998; 77: 59-66.
 11. Christensen MD, Everhart AW, Pickelman JT, Hulsebosch CE: Mechanical and thermal allodynia in chronic central pain following spinal cord injury. *Pain* 1996; 68: 97-107.
 12. Xu XJ, Hao JX, Seiger A, Wiesenfeld-Hallin Z: Systemic excitatory amino acid receptor antagonists of the α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) receptor and of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor relieve mechanical hypersensitivity after transient spinal cord ischemia in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 267: 140-4.
 13. Drugul A, Ossipov MH, Lai J, Malan TP Jr, Porreca F: Peripheral and spinal antihyperalgesic activity of SIB-1757, a metabotropic glutamate receptor (mGluR5) antagonist, in experimental neuropathic pain in rats. *Neurosci Lett* 2000; 292: 115-8.
 14. Walker K, Bowes M, Panesar M, Davis A, Gentry C, Kesingland A, et al: Metabotropic glutamate receptor subtype 5(mGluR5) and nociceptive function. I. Selective blockade of mGluR5 receptors in models of acute, persistent and chronic pain. *Neuropharmacology* 2001; 40: 1-9.
 15. Dolan S, Nolan AM: Behavioural evidence supporting a differential role for group I and II metabotropic glutamate receptors in spinal nociceptive transmission. *Neuropharmacology* 2000; 39: 1132-8.
 16. Young MR, Fleetwood-Walker SM, Mitchell R, Dickinson T: The involvement of metabotropic glutamate receptors and their intracellular signalling pathways in sustained nociceptive transmission in rat dorsal horn neurons. *Neuropharmacology* 1995; 34: 1033-41.
 17. Hargreaves K, Dubner R, Brown F, Flores C, Joris J: A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain* 1988; 32: 77-88.
 18. Magoul R, Onteniente B, Geffard M, Calas A: Anatomical distribution and ultrastructural organization of the GABAergic system in the rat spinal cord. An immunohistochemical study using anti-GABA antibodies. *Neuroscience* 1987; 20: 1001-9.
 19. Todd AJ, McKenzie J: GABA-immunoreactive neurons in the dorsal horn of the rat spinal cord. *Neuroscience* 1989; 31: 799-806.
 20. Todd AJ, Lockhead B: GABA-like immunoreactivity in type 1 glomeruli of rat substantia gelatinosa. *Brain Res* 1990; 514: 171-4.
 21. Chung KS, Coggeshall RE: Propriospinal fibers in the rat. *J Comp Neurol* 1983; 217: 47-53.
 22. Downie JW, Ferrington DG, Sorkin LS, Willis WD Jr: The primate spinocervicothalamic pathway: responses of cells of the lateral cervical nucleus and spinocervical tract to innocuous and noxious stimuli. *J Neurophysiol* 1988; 59: 861-85.
 23. Nijensohn DE, Kerr FWL: The ascending projections of the dorsolateral funiculus of the spinal cord in the primate. *J Comp Neurol* 1975; 161: 459-70.