

척수손상 후 척수 내 GABA 체계의 손실이 중추 신경병증성 통증 유발의 원인이라는 행동학적 및 전기생리학적 증거

연세대학교 의과대학 생리학교실, *마취과학교실

곽영섭 · 심 범 · 윤덕미* · 남택상 · 백광세 · 임중우

= Abstract =

Loss of the Spinal GABAergic System Is Involved in Chronic Central Pain Following a Spinal Cord Injury; Behavioral and Electrophysiological Evidences

Young Seob Gwak, Beom Shim, 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: Allodynia, hyperalgesia, and spontaneous pain are symptoms characterized by chronic central pain which was frequently observed following a spinal cord injury (SCI). However, the underlying mechanism has not been fully understood. This study was conducted to investigate whether the loss of the GABAergic system in the spinal dorsal horn was involved in the development of central pain following a spinal cord injury.

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 the dorsal horn neurons (L4-L6) was recorded extracellularly using a carbon filament-filled glass micro-electrode (2-4 M Ω). The drugs were intrathecally or topically administrated on the spinal surface for behavioral and electrophysiological experiments, respectively.

Results: After a left spinal hemisection at T13, behavioral signs of mechanical allodynia developed on both hind-paws and responsiveness of spinal dorsal horn neurons increased on both sides of the spinal dorsal horn. GABA receptor agonists including GABA_A and GABA_B receptor subtypes suppressed mechanical allodynia on both sides of hind-paws and decreased responsiveness of spinal dorsal horn neurons on both sides of spinal cord.

Conclusions: These results indicate that a loss of the GABAergic system within the spinal cord plays a key role on the development of central pain following a spinal cord injury. (**Korean J Anesthesiol 2002; 42: 667~676**)

Key Words: Baclofen; central pain; GABA; muscimol; spinal cord injury.

논문접수일 : 2001년 12월 21일

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

Tel: 02-361-5195, Fax: 02-393-0203, E-mail: jwleem@yumc.yonsei.ac.kr

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

서 론

척수에서는 억제성 신경세포들이 존재하여 통각신호 전달을 조절하고 있는 것으로 알려져 있으며,^{1,2)} GABA (γ -aminobutyric acid)는 포유류의 중추신경계에서 대표적인 억제성 신경전달물질로서 중추신경계에서 관찰되는 전체 억제성 기능의 약 40%를 담당하고 있는 것으로 알려져 있다. 척수에서 GABA는 GABA_A와 GABA_B 수용기 아형을 통해 그 작용을 나타내는데 GABA_A 수용기는 ligand-gated Cl⁻ 통로를, 그리고 GABA_B 수용기는 G-protein을 통해 작용한다.³⁾ 이들 GABA 수용기는 척수후각의 laminae I-III에 주로 분포하며,^{4,6)} GABA를 함유하는 중간신경세포(interneuron)는 일차구심섬유의 말단 및 이차 감각신경의 세포체나 수상돌기에 연결되어 있음이 관찰되는데,⁷⁾ 이는 GABA 체계가 생리적 통증의 조절에 관여함을 시사한다. 한편, 말초신경 손상 후 신경병증성 통증행동을 보이는 동물모델에서 GABA성 신경세포가 척수후각에서 감소되었다는 형태학적인 연구 결과는⁸⁾ 척수의 GABA성 중간신경세포의 손실이 중요한 통증 유발 요인일 것임을 시사한다. 말초신경병증성 통증에 관여하는 척수 내 GABA 수용기 아형에 관해서는 비교적 자세히 연구되어져 있다. 즉, 말초신경 손상 후 유발되는 이질통 유사 통증행동은 수막강 내로 주입한 GABA_A와 GABA_B 수용기 효현제 모두에 의하여 억제되고,⁹⁾ 기계적 통각과민 유사 통증행동은 수막강 내로 주입한 GABA_B 수용기 효현제에 의하여 억제됨이 관찰되었다.¹⁰⁾ 이들 결과 및 앞서 언급한 형태학적 결과는 말초신경 손상에 의해 유발되는 말초 신경병증성 통증에서 척수 내 GABA 중간신경세포의 손실이 통증 유발에 중요하며, 서로 다른 통증 증상에 두 GABA 수용기 아형이 다르게 관여할 것임을 시사한다. 한편, 척수의 허혈성 손상(ischemic injury)을 받은 동물에서도 통증행동이 유발되는데, 이 동물의 척수후각에서는 GABA에 대한 면역반응(immunoreactivity)이 감소됨이 관찰되었다.¹¹⁾ 이는 척수손상에 의한 중추 신경병증성 통증의 경우에도 척수 내 GABA 체계의 손실이 통증행동 유발에 원인일 가능성을 제시한다. 하지만 이 가능성을 더욱 견고히 하기 위해서는 말초 신경병증성 통증에서 연구된 것과 같이 행동학적

연구나 또는 전기생리학적 연구와 같은 추가적인 연구가 요구되지만 아직까지 척수손상 후 유발되는 비정상적인 통증 유발과 척수 내 GABA와의 관계에 대한 행동학적 또는 전기생리학적 실험 결과에 대한 보고는 없다.

말초신경 손상 후 유발되는 말초 신경병증성 통증의 유발 원인은 전기생리학적, 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 억제성 체계의 손실이 관여하는지를 척수의 반절단(hemisec-tion) 모델을 이용하여 행동학적 실험과 전기생리학적 실험으로 조사하였다.

대상 및 방법

실험 동물은 실험용 흰쥐 118마리를 사용하였으며 이들을 모두 5그룹으로 분류하였다. 제1그룹(7마리)은 척수반절단 후 비정상적인 통증 유발을 행동학적인 실험으로 측정하였으며, 제2그룹(7마리)은 제1그룹에 대한 대조군으로 sham 그룹으로 하였다. 제3그룹은 척수손상 후 요척수 내 후각신경세포 반응도 변화를 기록하였으며(15마리) 여기에 대조군으로 정상 쥐(10마리)에서도 동일하게 기록하였다. 제4그룹(32마리)은 GABA 수용기 효현제를 수막강내 주입하여 척수손상 후 유발된 비정상적인 통증의 변화를 측정하였으며, 제5그룹(47마리)은 GABA 수용기 효현제를 척수 표면에 첨가한 후 요척수 내 후각신경세포 반응도 변화를 기록하였다.

중추 신경병증성 통증 유발 실험동물 제작

척수손상은 Christensen 등의 방법¹²⁾ 따라 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley, 무게 200-250 g)를 사용하여 제13흉수 왼쪽을 반절단(hemisec-tion)하였다. Enflurane (GerolanTM, 유도 3%, 유지 2%)으로 마취시킨 뒤 heating pad 위에 복와위로 엎드리게 한 뒤 흉추의 T11과 T12부위를 척수후궁절제술을 하여 척수를 노출시키고 미세절단칼을 이용하여 척수의 제13흉수 왼쪽 부위를 절단한 뒤 주사바늘(28 gauge)을 사용하여 척수의 중심부에서 배측에서 복측으로 삽입한 다

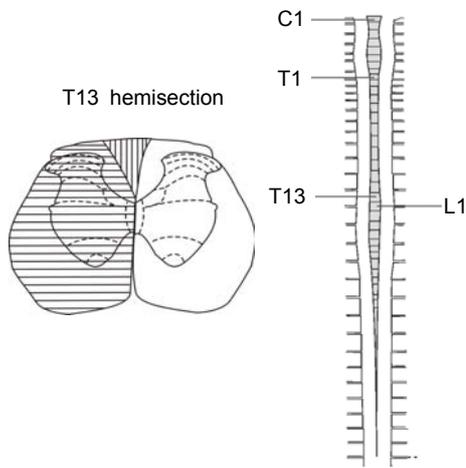


Fig. 1. A schematic diagram of the extent of the surgical lesion to the T13 spinal cord. The horizontal and vertical lines represent the minimum and maximum lesioned areas by hemisection, respectively. C: cervical, T: thoracic, L: lumbar segments of spinal cord.

음 외측으로 당겨 완전히 반절단하였다(Fig. 1). 척수 반절단 후 손상받은 측의 뒷발의 운동기능이 소실된 것을 정상적으로 척수반절단이 이루어진 것으로 간주하고 그 외에 이상이 있는 쥐들은 모두 제거하였으며, 각 cage에 3마리씩 12시간 주기의 light/dark cycle이 유지되는 사육실에서 사육하였다. 행동학적 실험을 위한 수막강 내 약물의 주입을 위해 enflurane (유도 3%, 유지 2%) 마취하에 stereotaxic에 머리를 고정시킨 뒤 polyethylene tubing (I.D. 0.28 mm, O.D. 0.61 mm, 길이 8.5 cm, Beckton & Dickson, USA)을 연수의 대조(cisterna magna) 부분에서 만든 구멍을 통하여 삽입하여 수막 하부의 수막강을 통하여 요수의 L3 지역에 도달하도록 하였다. 삽입 후 행동학적으로 이상을 보이는 쥐들은 모두 제거하였으며 삽입된 polyethylene tubing의 손상을 방지하기 위하여 각 cage 당 한 마리씩 넣어 위와 동일한 사육실에서 사육하였다. 행동학적 실험은 운동기능이 회복되는 척수손상 후 11일 후에, 전기생리학적 실험은 비정상적인 통증행동이 높게 나타나는 척수손상 후 15일에서 20일 사이에 수행하였다.

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 형성) 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 주입용 약물로써는 GABA 수용기 효현제인 GABA (0.5 μg/kg, Sigma, USA), GABA_A 수용기 효현제인 muscimol (5-aminomethyl-3-hydroxyiso-xazole, 1μg/kg, Tocris, UK), 그리고 GABA_B 수용기 효현제인 baclofen (4-amino-3-(4-chlorophenyl)butanoic acid, 0.5μg/kg, Tocris, UK)을 이용하였으며, 약물 주입 후 30분, 60분, 120분, 180분 간격으로 측정하였다. 이들 약물은 생리식염수에 녹여 10μl를 주입하였으며 주입 후 동량의 생리식염수로 PE-10관을 씻어 주었다. 사용된 약물의 양은 말초신경손상 후 유발된 비정상적인 통증행동을 운동기능에 이상없이 통증행동만을 완화시키는 것으로 보고된 Hwang과 Yaksh의⁹⁾ 실험에서 사용된 양을 참고로 하여 정하였다.

전기생리학적 실험

요수 내 후각신경세포 반응도는 세포외기록법(extracellular recording)으로 조사하였다. 척수반절단 후 비정상적인 통증행동을 보이는 동물을 대상으로 하여 pentobarbital sodium (40 mg/kg)을 쥐의 복강내에 투여하여 마취시키고 약물주입을 위해 경정맥에 정맥로를 개설하고 인공호흡을 위해 기관에 삽관하였다. 배측 피부를 절개한 후 제12흉추에서 제4요추까지 척추후궁절제술(laminectomy)을 시행하여 요수 부위를 노출시킨 뒤 머리와 척추를 정위고정대(stereotaxic frame)에 복와위로 고정하고 pancuronium bromide (pancronium bromideTM, 0.5 mg/kg/h, i.v.)를 주사해 근마비시킨 후 인공호흡기로 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 (wide dynamic range) 신경세포를 대상으로 하여 기록하였으며, WDR 신경세포는 일련의 기계적 자극

을 주었을 때 자극 강도가 증가할수록 신경세포 반응도가 증가하는 세포로 구별하였다. 측정부위인 요수 후각의 L4-L6 부위에 미세위치조절기(Narishige, Japan)를 이용하여 기록용 전극을 요수 후각 내로 삽입하면서(150-850 μ m) 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. GABA (0.1 μ g/kg), muscimol (1 μ g/kg), baclofen (0.1 μ g/kg)을 사용하였다. 각 약물 첨가 후 brush, pressure, 그리고 pinch 자극은 각기 10초간 자극하였으며 각 자극 사이에는 20초간의 회복시간을 주었다. 약물 첨가 후 2분, 10분, 1시간, 그리고 2시간 후 각 자극들에 대한 요수 내 후각신경세포들의 반응도를 기록하였다.

통계처리

모든 통계처리의 유의성 기준은 P 수준 0.05 이하로 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 \pm 표준오차로 나타내었다.

결 과

척수의 제13흉수 부위에서 척수를 반절단한 후 정상적으로는 회피반응을 보이지 못하는 약한 기계적 자극(von Frey hair, 2.0 g)에 회피반응을 보이는 이질통 유사 통증행동이 손상 받은 쪽(ipsilateral) 뒷발과 손상 받지 않은 쪽(contralateral) 뒷발(앞발에서는 측정하지 않음) 모두에서 관찰되었다(Fig. 2). 제13흉수 반절단 이전에 3% (손상 측) 및 5% (손상 반대측)의 회피반응 빈도를 보이던 것이 반절단 이후에는 손상 측은 45%, 손상 반대측은 49%로 회피반응 빈도가

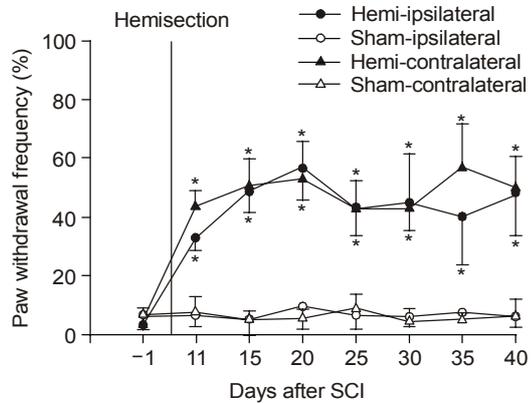


Fig. 2. The time course of development of mechanical allodynia after spinal hemisection. Although spinal hemisection was done by only left side at T13, the mechanical allodynia developed on both sides of hind-paws.

유의하게 증가하였다. 증가된 회피반응 빈도는 제13 흉수 반절단 후 11일이 경과한 후부터 관찰되었으며 실험 기간 내 유지되었다. 행동학적인 실험이 척수 반절단 후 11일이 경과한 후부터 측정된 이유는 척수반절단에 의해 소실되었던 뒷발의 운동기능이 11일이 경과해야 완전히 회복되었기 때문이다. 하지만 대조군으로 사용된 sham 그룹에서는 실험기간 내의 있는 변화를 보이지 않았다(Fig. 2).

제13흉수 반절단 후 이질통 유사 통증행동을 보이는 동물을 대상으로 하여 말초 수용야에 가해진 일련의 기계적 자극(bush, pressure, pinch)에 대한 요수 내 후각신경세포 반응도 변화를 WDR 신경세포에서 관찰하였다(Fig. 3). 제13흉수 반절단 후 손상 받은 측뿐만이 아니라 손상 반대측 요수 내 WDR 신경세포도 말초의 수용장에 가해진 기계적 자극(bush, pressure, pinch 자극)에 대한 반응도가 증가함을 보였다. Brush 자극에 대해서는 정상군(척수 손상을 받지 않은 군)의 WDR 신경세포 반응도는 11.1 \pm 1.2 spikes/sec (n = 22)을 보였으나, 제13흉수 반절단을 받은 손상 측과 손상 반대측은 35.1 \pm 2.3 spikes/sec (n = 35)과 33.7 \pm 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 \pm 2.4, 손상 측: 28.3 \pm 2.3, 손상 반대측: 27 \pm 2.0 spikes/sec) 및 pinch 자극(정상군: 19.9 \pm 2.1, 손상

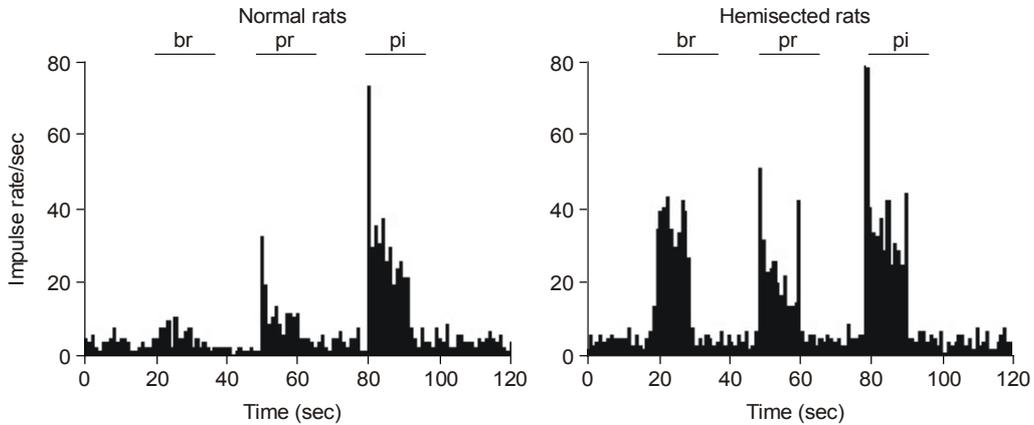


Fig. 3. Typical examples of the responses of dorsal horn neurons to three consecutive mechanical stimuli (brush, pressure, pinch) in normal and rats with hemisection. This histogram represents the response patterns of dorsal horn neurons to mechanical stimuli as action potential frequency. A comparison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

측: 42.3 ± 3.3 spikes/sec, 손상 반대측: 35.4 ± 3.1 spikes/sec) 모두 양측의 요수 내 WDR 신경세포 반응도가 유의하게 증가함을 보였다(Fig. 4). 이와 같은 결과는 척수손상 후 무해한 자극뿐만 아니라 유해한 자극에 대해서도 요수 내 후각신경세포 반응도가 향진되었음을 의미한다. 요수 내 WDR 신경세포의 기록은 행동학적 실험에 의해 회피반응이 증가되어 있는 기간 동안에 기록하였다.

제13흉수 반절단 후 양측 뒷발에서 관찰된 이질통 유사 통증행동 및 요수 내 신경세포 반응도 증가에 척수 내 GABA의 소실이 원인인지를 알아보기 위해 GABA (0.5µg/kg)와 GABA_A 수용기 효현제인 muscimol (1µg/kg), 그리고 GABA_B 수용기 효현제인 baclofen (0.5µg/kg)을 이용하여 행동학적 및 전기생리학적 실험을 하였다. 행동학적 실험은 GABA, muscimol, 그리고 baclofen을 각기 10µl를 수막강 내로 주입하고 약물 주입 후 30분 60분, 120분 그리고 180분 후 회피반응 빈도 변화를 측정하였다. 수막강 내로 주입된 GABA는 손상 측에서 제13흉수 반절단 후(before) 관찰된 49%의 회피 반응빈도를 23%로, 손상 반대측에서는 51% (before)의 회피 반응빈도를 25%로 양측 모두 유의하게 감소시켰다(Fig. 5). GABA에 의한 회피반응 빈도의 감소가 척수 내에 존재하는 GABA의 두 수용기 아형 중 어떤 수용기

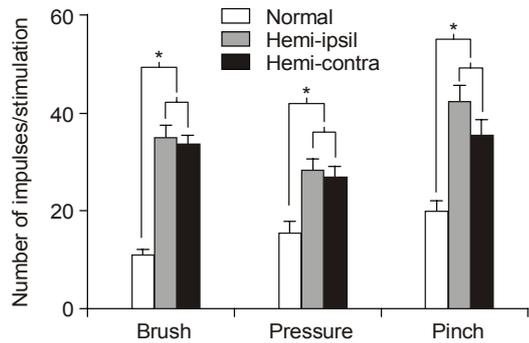


Fig. 4. Comparisons of mechanical responsiveness of WDR neuron in dorsal horn neurons between normal and rats with hemisection. As compared to normal rats, mechanical responsiveness of WDR neurons in dorsal horn neurons of rats with hemisection were significantly increased to all stimuli on both sides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

아형에 의해 이루어지는 지를 알아보기 위하여 GABA_A 수용기 효현제인 muscimol과 GABA_B 수용기 효현제인 baclofen을 수막강 내로 주입하였다. 수막강 내로 주입된 muscimol은 제13흉수 반절단 후 손상 측에서 관찰된 63%의 회피반응 빈도를 32%로, 손상 반대측에서 72%의 회피반응 빈도를 54%로 유의하게 감소시켰다. Baclofen은 손상 측에서 60%의 회피반응

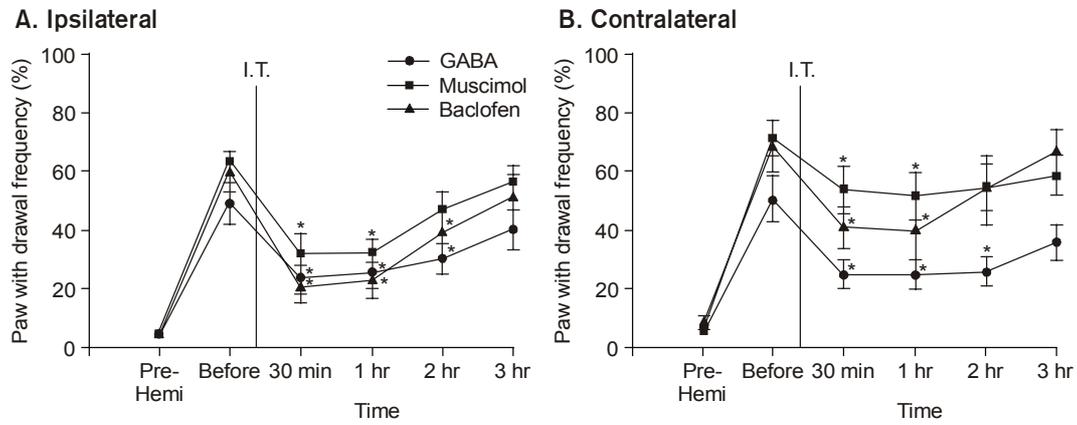


Fig. 5. The effects of intrathecal injection of GABA and GABA receptor subtype agonists on mechanical allodynia. The increased paw withdrawal frequency (before) after spinal hemisection was attenuated by administration of GABA (n = 13), muscimol (n = 12), and baclofen (n = 7) on both ipsilateral (A) and contralateral (B) hind-paws. I.T.: intrathecal injection. Before: 20 days after T13 hemisection (P < 0.05).

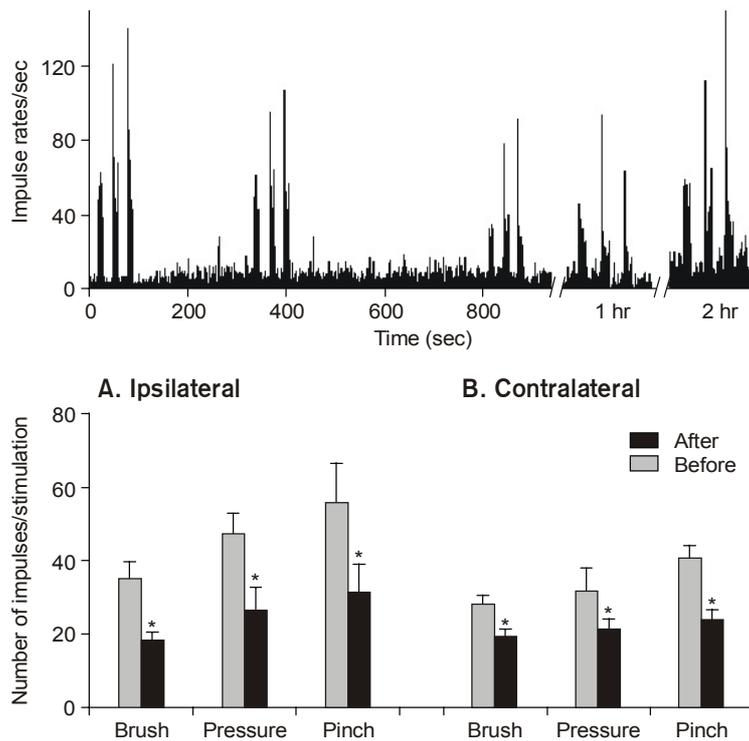


Fig. 6. The effects of GABA to mechanical responsiveness of dorsal horn dorsal horn (DH) neurons in hemisected rats. The increased mechanical responsiveness of DH neurons in hemisected rats was attenuated by topical application onto spinal surface of GABA (0.1µg/kg) on both ipsilateral (A) and contralateral (B) spinal cord (P < 0.05).

빈도를 20%로, 손상 반대측에서는 69%의 회피 반응 빈도를 41%로 유의하게 감소시켰다.

제13흉수 반절단 후 척수 내 GABA의 소실이 요수 내 후각신경세포에서 관찰된 WDR 신경세포 반응도 증가의 원인인지를 알아보았다. 행동학적 실험에서 사용된 동일 약물을 가해주는 양을 달리하여 GABA (0.1 μ g/kg)과 muscimol (1 μ g/kg), 그리고 baclofen (0.1 μ g/kg) 50 μ l를 요수 표면에 떨어뜨려 WDR 신경세포 반응도 변화를 살펴보았다. 요수 표면에 첨가해준 GABA는 제13흉수 반절단 후 증가된 WDR 신경세포 반응도를 유의하게 감소시켰으며 약물 첨가 후 10분 후부터 1시간 정도 감소 효과가 지속되었다(Fig. 6). 제13흉수 반절단이 이루어진 손상 측의 경우 brush 반응에 대한 신경세포 반응도는 GABA 처리 전에 35.1 \pm 4.5 spikes/sec이었지만 GABA 처리 후에 18.2 \pm 2.5 spikes/sec (n = 10)로 유의하게 감

소되었으며, 손상 반대측의 경우에도 28.1 \pm 2.4 spikes/sec이었지만 GABA 처리 후에 19.3 \pm 2.1 spikes/sec (n=11)로 유의한 감소를 나타내었다. Pressure와 pinch 자극에 대한 신경세포 반응도 역시 손상 측과 손상 반대측 모두 유의한 감소를 나타내었다. 감소 양상은 손상 측과 손상 반대측에서 모두 유사하게 관찰되었다(Fig. 6). 요수 표면에 첨가해준 muscimol은 제13흉수 반절단 후 증가된 WDR 신경세포 반응도를 유의하게 감소시켰으며 약물 첨가 후 10분 후부터 1시간 정도 감소 효과가 지속되었다(Fig. 7). 제13흉수 반절단이 이루어진 손상 측의 경우 brush 반응에 대한 신경세포 반응도는 muscimol 처리 전에 34.2 \pm 8.6 spikes/sec이었지만 처리 후에 14.3 \pm 4.2 spikes/sec (n = 6)로 유의하게 감소되었으며, 손상 반대측의 경우에도 30.9 \pm 4.9 spikes/sec이었던 것이 19.7 \pm 6.0 spikes/sec (n = 8)로 유의한

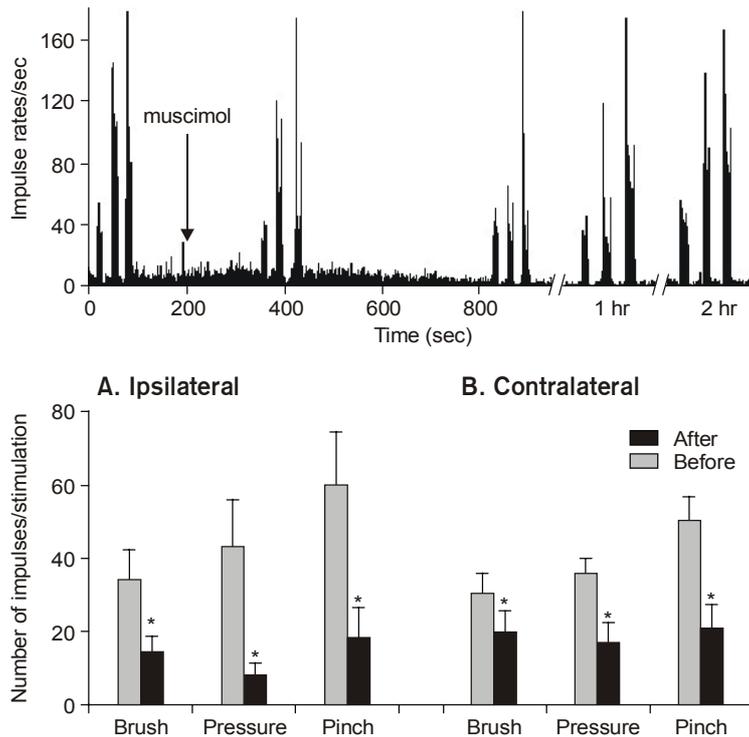


Fig. 7. The effects of muscimol to mechanical responsiveness of dorsal horn (DH) neurons in rats with hemisection. The increased mechanical responsiveness of DH neurons in rats with hemisection was attenuated by topical application onto spinal surface of muscimol (1/kg) on both ipsilateral (A) and contralateral (B) spinal cord (P < 0.05).

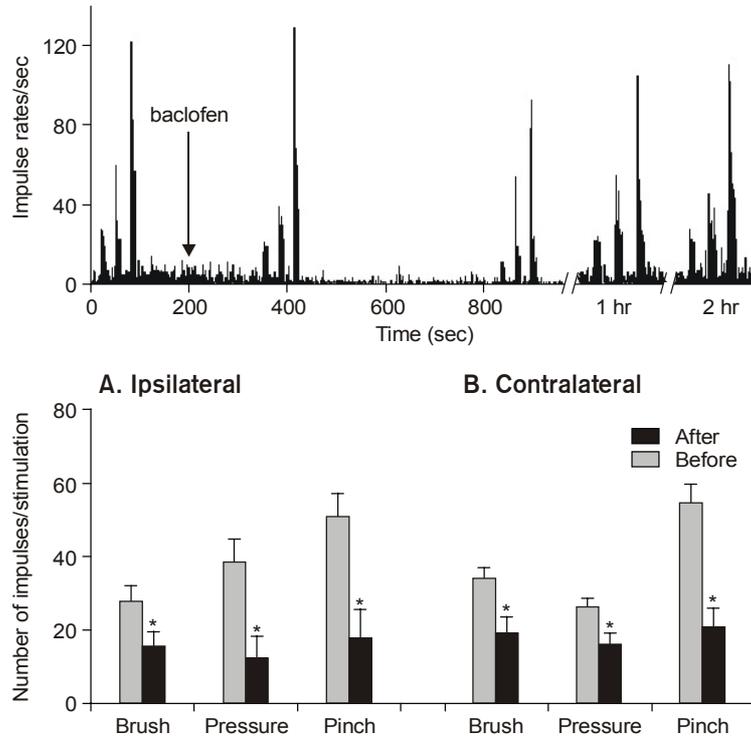


Fig. 8. The effects of baclofen to mechanical responsiveness of dorsal horn (DH) neurons in rats with hemisection. The increased mechanical responsiveness of DH neurons in rats with hemisection was attenuated by topical application onto spinal surface of baclofen (0.1µg/kg) on both ipsilateral (A) and contralateral (B) spinal cord (P < 0.05).

감소를 나타내었다. Pressure와 pinch 자극에 대한 신경세포 반응도 역시 손상 측과 손상 반대측 모두 유의한 감소를 나타내었다. 감소 양상은 손상 측과 손상 반대측에서 모두 유사하게 관찰되었다(Fig. 7). 요수 표면에 첨가해준 baclofen은 제13흉수 반절단 후 증가된 WDR 신경세포 반응도를 유의하게 감소시켰으며 약물 첨가 후 10분 후부터 1시간 정도 감소 효과가 지속되었다(Fig. 8). 제13흉수 반절단이 이루어진 손상 측의 경우 brush 반응에 대한 신경세포 반응도는 baclofen 처리 전에 27.8 ± 4.1 spikes/sec이었던 것이 baclofen 처리 후에 15.7 ± 3.8 spikes/sec (n = 6)로 유의하게 감소되었으며, 손상 반대측의 경우에도 34.1 ± 2.8 spikes/sec이었던 것이 19.8 ± 4.6 spikes/sec (n = 6)로 유의한 감소를 나타내었다. Pressure와 pinch 자극에 대한 신경세포 반응도 역시 손상 측과 손상 반대측 모두 유의한 감소를 나타내었다. 감소 양상은 손상 측과 손상 반대측 모두

유사하게 관찰되었다(Fig. 8).

고 찰

제13흉수 반절단(제13흉수 수준)에 의한 척수손상 후 생성되는 이질통 유사 통증행동 및 요 척수내 후각신경세포의 반응도 증가가 요 척수에 가해진 GABA_A 및 GABA_B 수용기 아형 효현제 모두에 의해 감소됨을 관찰하였다. 이러한 결과는 말초 신경손상 후 유발되는 이질통 유사 통증행동이 수막강 내로 주입한 GABA_A와 GABA_B 수용기 효현제 모두에 의하여 감소되는 결과와 일치성을 보인다.⁹⁾ 한편, 말초 신경 손상이나 척수의 허혈성 손상 후 이질통 유사 통증행동을 보이는 동물모델의 척수후각에서 GABA-유사 면역반응(GABA-like immunoreactivity)이 감소됨이 보고되었는데,¹¹⁾ 이는 척수 내 GABA성 중간신경세포의 소실이 말초 및 중추 신경병증성 통증 유발

에 중요한 원인일 것임을 시사한다. 이를 고려한다면, 본 실험에서 요수에 가해진 GABA_A 및 GABA_B 수용기 효현제가 이질통 유사 통증행동과 요수 내 후각신경세포 반응도 증가를 억제한 것을 미루어보아, 제13흉수 반절단이 요수 내 GABA성 중간신경세포의 소실을 유도하고 그 결과 이질통 유사 통증행동과 요수 내 후각신경세포 반응도 증가를 초래한 것으로 추측할 수 있다. GABA_A 및 GABA_B 수용기 아형 효현제에 의한 억제작용에 관한 설명으로는, GABA_A 수용기 효현제의 경우 시냅스후 신경세포 (postsynaptic neuron)에서 Cl⁻ 투과도를 증가시켜 신경세포를 과분극시켜 신경세포 흥분성을 감소시키고,¹³⁾ GABA_B 수용기 효현제의 경우 일차 구심섬유 말단에서 G_i protein에 연결된 K⁺ 통로를 조절하여 K⁺ 투과도를 증가시키고 이에 따른 Ca²⁺ 유입의 감소에 의하여 신경말단으로부터 신경전달물질의 유리를 억제시켜 이루어 질 것으로 생각된다.^{14,15)}

본 실험결과는 제13흉수 반절단 후 관찰된 이질통 유사 통증행동 및 요수 내 후각신경세포 반응도 증가의 중요한 요인으로서 요수 내 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 연결되어⁷⁾ 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 통각정보는 증폭되어 고위중추로 전달되게 될 것이다.

한편, 손상받지 않은 측의 요수에서도 억제성 중

간신경세포의 소실이 있을 수 있다. 이 경우는 척수 내에 존재하는 척수의 좌측과 우측을 연결해주는(commissural connection) 연결성 중간신경세포가¹⁶⁾ 중요한 역할을 할 것으로 생각할 수 있다. 즉 제13흉수 반절단에 의해 어떠한 원인으로든지 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 통각정보가 증폭되어 고위중추로 전달되게 될 것이다. 이때 증폭된 통각정보는 통각정보 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 통각정보가 고위 중추로 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,¹⁷⁻¹⁹⁾ 손상 반대측 요수에서 동측의 제13흉수 뒷부분까지를 연결해주는 척수고유경로(propriospinal pathways)를 통해 반대편 시상으로 전달되는 경우를 생각해 볼 수 있다.¹⁶⁾

결론적으로, 본 실험에서는 제13흉수의 반절단에 의한 이질통 유사 통증행동과 요수 내 후각신경세포 반응도 증가의 유발에는 척수 내 GABA성 중간신경세포의 소실이 중요하게 공헌할 것임을 밝혔다. 이는 척수손상에 따른 신경병증성 통증의 관리에 GABA 관련 물질의 활용 가능성에 관한 실험적 근거를 제공해 준다.

참 고 문 헌

1. Melzack R, Wall PD: Pain mechanism: A new Theory. Science 1965; 10: 971-79.
2. Nathan PW: The gate-control theory of pain. Brain 1976; 99: 123-58.
3. Malcangio M, Bowery NG: GABA and its receptor in

- the spinal cord. *Trends Pharmacol Sci* 1996; 17: 457-62.
4. 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.
 5. Todd AJ, MaKenzie J: GABA-immunoreactive neurons in the dorsal horn of the rat spinal cord. *Neuroscience* 1989; 31: 799-806.
 6. Barber RP, Vaughn JE, Saito K, McLaughlin B, Roberts E: GABAergic terminals are presynaptic to primary afferent terminals in the substantia gelatinosa of the spinal cord. *Brain Res* 1978; 141: 35-55.
 7. Todd AJ, Lockhead B: GABA-like immunoreactivity in type 1 glomeruli of rat substantia gelatinosa. *Brain Res* 1990; 514: 171-4.
 8. Ibuku 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.
 9. Hwang JH, Yaksh TL: The effect of spinal GABA receptor agonist on tactile allodynia in a surgically-induced neuropathic pain model in the rat. *Pain* 1997; 70: 15-22.
 10. Patel S, Naeem S, Kesingland A, Froestl W, Capogna M, Urban L, et al: The effects of GABA_B agonists and gabapentin on mechanical hyperalgesia in models of neuropathic and inflammatory pain in the rat. *Pain* 2001; 90: 217-26.
 11. Zhang AL, Hao JX, Seiger A, Xu XJ, Wiesenfeld-Hallin Z, Grant G, et al: Decreased GABA immunoreactivity in spinal cord dorsal horn neurons after transient spinal cord ischemia in the rat. *Brain Res* 1994; 656: 187-90.
 12. 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.
 13. Bormann J, Hamill OP, Sakman B: Mechanism of anion permeability through channels gated by glycine and gamma-aminobutyric acid in mouse cultured spinal neurons. *J Physiol* 1987; 385: 243-86.
 14. Dunlap K: Functional and pharmacological differences between two types of GABA receptor on embryonic chick sensory neurons. *Neurosci Lett* 1984; 47: 265-70.
 15. Sawynok J: GABAergic mechanisms of analgesia: an update. *Pharma Biochem Behav* 1987; 26: 463-74.
 16. Chung KS, Coggeshall RE: Propriospinal fibers in the rat. *J Comp Neurol* 1983; 217: 47-53.
 17. Nijensohn DE, Kerr FW: The ascending projections of the dorsolateral funiculus of the spinal cord in the primate. *J Comp Neurol* 1975; 161: 459-70.
 18. Downie JW, Ferrington DG, Sorkin LS, Willis Jr WD: 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.
 19. Kajander KC, Giesler GJ: Responses of neurons in the lateral cervical nucleus of the cat to noxious cutaneous stimulation. *J Neurophysiol* 1987; 57: 1686-704.
-