

신경병증성통증 모델쥐에서 뇌간핵 부위에 미세 주입한 Bicuculline에 의한 척수후각세포의 반응도 억제

연세대학교 의과대학 생리학교실 및 ¹울산대학교 의과대학 마취과학교실

임중우 · 최 윤¹ · 이재환 · 남택상 · 백광세

= Abstract =

Suppression by Microinjection of Bicuculline into Brain Stem Nuclei of Dorsal Horn Neuron Responsiveness in Neuropathic Rats

Joong Woo Leem, Ph.D., Yoon Choi, M.D.¹, Jae Hwan Lee, M.D.
Taick Sang Nam, M.D., Ph.D. and Kwang Se Paik, M.D., Ph.D.

Department of Physiology, Yonsei University College of Medicine

¹Department of Anesthesiology, Ulsan University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: The present study was conducted to investigate effects of microinjection of bicuculline, GABA-A receptor antagonist, into the brain stem nuclei on the dorsal horn neuron responsiveness in rats with an experimental peripheral neuropathy.

Methods: An experimental neuropathy was induced by a unilateral ligation of L5~L6 spinal nerves of rats. After 2~3 weeks after the surgery, single-unit recording was made from wide dynamic range (WDR) neurons in the spinal cord dorsal horn.

Results: Responses of WDR neurons to both noxious and innocuous mechanical stimuli applied to the somatic receptive fields were enhanced on the nerve injured side. These enhanced responsiveness of WDR neurons were suppressed by microinjection of bicuculline into periaqueductal gray(PAG) or nucleus reticularis gigantocellularis(Gi). A similar suppression was also observed when morphine was microinjected into PAG or Gi. Suppressive action by Gi-bicuculline was reversed by naloxonazine, μ -opioid receptor antagonist, microinjected into PAG whereas PAG-bicuculline induced suppression was not affected by naloxonazine injection into Gi. Gi-bicuculline induced suppression were reversed by a transection of dorsolateral funiculus(DLF) of the spinal cord.

Conclusions: The results suggest that endogenous opioids, via acting on GABAergic interneurons in PAG and Gi, may be involved in the control of neuropathic pain by activating the descending inhibitory pathways that project to the spinal dorsal horn through DLF to inhibit the responsiveness of WDR neurons.

Key Words: Bicuculline, Descending inhibition, GABAergic system, Neuropathic pain

서 론

신경병증성통증은 말초신경의 부분적인 손상 후에 자주 유발되는데, 이 통증의 특징적인 증상에는 통각과민, 이질통 및 자발성 연소통 등이 포함된다. 이러한 증상과 유사한 행동학적 징후를 보이는 동물 모델이 보고된 이후, 이 질병에 대한 병태생리적 과정을 이해하고자 많은 연구가 이루어져 왔다.¹⁻⁴⁾ 그러나 대부분의 연구는 신경병성통증에 대한 유발 기전을 규명하는데 초점을 맞추고 있으며, 이 질병을 효과적으로 관리하고 치료할 수 있는 방법에 대한 연구보고는 미약한 실정이다.

통증을 완화시키려는 여러 시도 중 전통적으로 자주 사용되는 방법으로 침술이나 전기침술을 예로 들 수 있는데, 이들에 의한 진통작용에 뇌간내 통증 조절부위에서의 내인성 아편제의 작용과 하행성 억제신경로의 활성이 관여되어 있음은 잘 알려진 사실이다.^{5,6)} 신경병증성통증에 관해서도 이들 방법과 내인성 아편제의 작용이 진통효과를 발휘하는데 긍정적인 수 있다고 보고되었다.⁷⁻¹¹⁾ 본 연구실에서는 신경병증성통증 모델쥐에서 전기침자극이 척수후각세포의 반응도를 억압시킴을 관찰한 바 있다.^{12,13)} 또한 뇌간내에서 내인성아편제의 작용에 의한 진통작용에 GABA성 체계가 관련되었을 것임이 제시되었다.¹⁴⁻¹⁷⁾ 이들 연구 결과는 말초의 전기자극이 뇌간내에서 내인성 아편제의 작용과 GABA성 체계를 통하여 신경병성통증을 완화시킬 수 있음을 강력히 암시하지만, 자세한 기전에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

신경병증성통증 모델쥐에서 뇌간내 핵부위의 전기자극이 척수후각세포의 반응도를 억압함을 본 연구실에서 이미 관찰한 바 있다.¹⁸⁾ 본 연구는 신경병증성통증에 대한 전기침자극의 진통 기전을 규명하기 위한 일환으로써, 뇌간내 통증조절부위에서 GABA성 체계를 중재하여 활성화되어 척수로 투사되는 하행성 신경로의 특성을 조사하였다.

대상 및 방법

1) 동물 모델 제작

실험 동물은 체중 150~200 gm의 흰쥐(Sprague-

Dawley)를 암수 구별 없이 사용하였다. Halothane(1~2%), O₂ 및 N₂O의 혼합가스로 동물을 마취시킨 후, 한쪽의 제 5 및 제 6요척수신경을 노출시켜 실크실(3-0)로 결찰하였다. 수술이 끝난 뒤, 따뜻한 열전구 하에서 동물을 마취로부터 회복시킨 후 동물 사육실로 복귀시켰다.

2) 행동학적 검사

상기 방법으로 제작된 모델 쥐에서, 신경결찰을 받은 쪽 발이 결찰을 받지 않은 반대 쪽 발에 비해 무해성 기계자극에 대한 감수성이 증가되었음을 본 연구실에서 확인한 바 있다.¹²⁻¹³⁾ 즉 무해성 기계자극에 대한 감수성의 증가가 신경결찰 후 제 1일부터 나타나기 시작하여 제 10~15일에 최고에 도달하였으며 약 2개월 간 지속됨을 관찰하였다. 따라서 본 연구에서는 결찰 수술 후 제 10~15일에 행동학적 검사를 실시하여 기계자극에 대한 감수성이 증가된 모델 쥐를 선택한 후 전기생리학 실험을 실시하였다. 이때 행동학적 검사를 위해서 동물을 바닥이 철망으로 된 조그만 통속에 넣고 아래쪽으로부터 철망을 통하여 약한 von Frey filament(2.5 gm)를 동물의 발바닥에 2~3초 간격으로 10번 반복하여 가해 주면서 발의 도피반응빈도를 조사하였는데, 신경 결찰을 받은 쪽 발이 결찰받지 않은 반대 쪽 발에 비하여 높은 도피반응빈도를 보이는 경우의 쥐를 선택하여 전기생리실험을 실시하였다.

3) 전기생리학적 기록법

도피반응이 잘 나타나는 모델 쥐에 pentobarbital sodium(40 mg/kg)을 복막내 주사해 마취 시킨후 약물 주입을 위한 경정맥과 인공호흡을 위한 기도에 삽관을 실시하였다. 척수내 후각신경세포의 신경활동을 기록하기 위해 배측 정중선을 따라 피부를 절개한 후 제 12흉추에서 제 4요추까지 척수후궁절제술을 시행하여 척수를 노출 시켰다. 머리와 척추를 정위조정대(stereotaxic frame)에 복위위로 고정하고 pancuronium bromide(0.5 mg)을 주사해 근마비를 시킨 후 인공호흡기로 호흡시켰다. 이때 인공호흡은 end-tidal CO₂농도가 3.5~4.5%되게 유지시키고 직장내 온도는 자동제어 열방식을 이용해 37°C로 유지시켰다.

L3~L5척수의 표면에서 1000 μm 깊이까지에 존

재하는 후각신경세포를 대상으로 carbon filament-filled electrode(3~6 MΩ)를 이용한 세포외기록법으로 단일 신경세포의 신경활동을 기록하였다. 즉 micro-drive를 이용해 기록용 전극을 척수 내로 진입시키면서 발의 피부에 있는 수용야를 반복적으로 손으로 자극시키면서 이에 반응하는 단일 신경세포를 찾았다. 단일 신경세포를 찾은 다음 발피부에 있는 수용야에 일련의 기계 자극(brush, press, pinch)을 가하여 이에 대한 반응 양상을 poststimulus time histogram으로 기록하였다. Brush자극은 붓을 이용해 일정한 힘으로 수용야의 중앙을 약 1초에 4번 반복적으로 가로지름으로써 가해 주며, press와 pinch자극은 calibrated forceps를 이용하여 각각 100 gm과 300 gm의 일정한 힘으로 수용야의 중앙 부위가 포함되도록 피부를 집어서 가해 주었다. 각 자극은 10초간 가해 주었으며, 이들 세 자극에 대해 반응을 보이는 wide dynamic range(WDR)형 후각세포를 대상으로 자극을 가해주는 동안 유발된 임펄스의 수를 측정하였다.

4) 약물의 미세주입

Hamilton 주사기를 정위고정용 조작기에 부착하고 쥐의 뇌좌표도¹⁹⁾에 의거하여 뇌간 내의 특정 부위로 접근시키고 이를 통하여 약물을 미세량 주입하였다(0.5~1 μl). 약물주입 부위의 위치는 실험 후 뇌간조직을 microsection하여 확인하였다. 미세주입에 사용한 약물은 morphine sulfate(5 μg), bicuculline methchloride(GABA-A receptor antagonist, 20~50 ng) 및 naloxonazine(μ-opioid receptor antagonist, 20~50 ng)이었다. 약물주입의 뇌간내 대상 부위는 periaqueductal gray(PAG), nucleus raphe magnus(NRM), nucleus reticularis gigantocellularis(Gi), nucleus reticularis paragigantocellularis lateralis(LPGi) 또는 locus coeruleus(LC)이었다.

5) 통계처리

각 기계자극 간의 후각세포반응도 차이는 Mann-Whitney rank sum test로 분석하였고, 약물 주입 전과 후 간의 후각세포반응도 차이는 Wilcoxon signed rank test로 분석하였다. P값이 0.05보다 작은 경우에 유의 있는 차이가 있다고 간주하였다. 실험성적은 평균±표준오차로 나타내었다.

결 과

1) 척수후각세포의 기계자극에 대한 반응도

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

2) 뇌간 부위에서 GABA성 체계의 역할

본 연구실에서는 신경병증성통증 모델쥐를 이용한 이전 실험에서 뇌간내 여러 핵부위 중 특히 PAG, Gi 또는 NRM의 전기자극이 척수후각세포의 반응도를 억제함을 관찰한 바 있다.¹⁸⁾ 본 연구에서는 이들 부위에서의 모르핀의 작용과 GABA성 체계의 역할을 알아보기로 모르핀 또는 GABA-A 수용체 길항제인 bicuculline을 뇌간 부위에 미세량(0.5~1 μl) 주입한 후 10~20분 경과 시 척수후각세포의 반응도 변화를 조사하였다. PAG에 모르핀을 주입한 경우 주입 전에 비하여 brush 유발반응은 49.7%가 감소되었고 pinch 유발반응은 53.4%가 감소되었으며, Gi에 모르핀을 주입한 경우 주입 전에 비하여 brush 유발반응은 44.8%가 감소되었고 pinch 유발반응은 50.2%가 감소되었다. 그러나 NRM에 모르핀을 주입한 경우는 후각세포 반응도에 영향을 미치지 않았다(Fig. 1A). Bicuculline의 경우 이를 PAG나 Gi에 주입한 결과 모르핀 주입의 경우와 비슷한 양상으로 후각세포의 반응도가 억제됨을 관찰하였다(Fig. 1B).

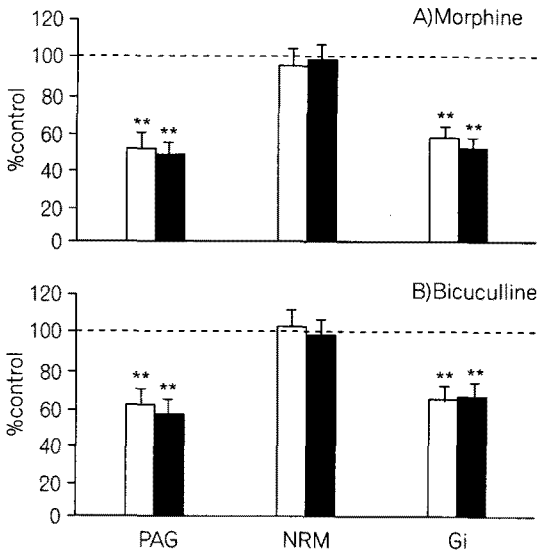


Fig. 1. Effects of morphine or bicuculline microinjected into brain stem nuclei on the responsiveness of spinal WDR neurons. Results represent the effects of microinjection of morphine sulfate(A; 5 μ g) or bicuculline methchloride(B; 20~50 ng) into PAG, NRM or Gi on brush- (white bars) and pinch-evoked responses(black bars) of spinal WDR neurons. Data are presented as percentage of control responses(total impulses in 10-sec brush or pinch stimulation) obtained before microinjection of either substance. PAG; periaqueductal gray, NRM; nucleus raphe magnus, Gi; nucleus reticularis gigantocellularis. ** $P < 0.05$; significantly different from the control.

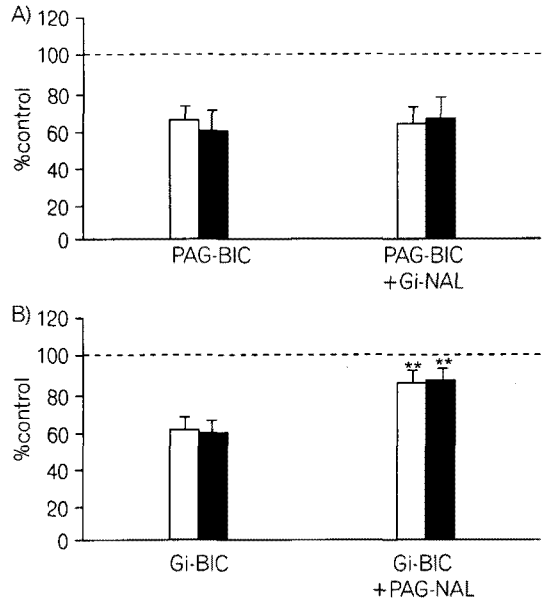


Fig. 2. Effects of naloxonazine microinjected into Gi or PAG on PAG- or Gi-bicuculline produced suppression of WDR neuron responses. A: effects on brush- (white bars) and pinch-evoked responses (black bars) of spinal WDR neurons observed with microinjection of bicuculline methchloride into PAG(PAG-BIC) or of bicuculline into PAG plus naloxonazine, μ -opioid receptor antagonist, into Gi(PAG-BIC plus Gi-NAL). B: effects on WDR neuron responses observed with microinjection of bicuculline into Gi or of bicuculline into Gi plus naloxonazine into PAG. Concentrations used for bicuculline and naloxonazine were 20~50 ng. Data are presented as percentage of control responses(total impulses in 10-sec brush or pinch stimulation) obtained before microinjection of substances. ** $P < 0.05$; significantly different from the Gi-BIC.

즉 PAG의 경우는 bicuculline 주입 전의 brush와 pinch 유발반응을 각각 38.3%와 43.4% 감소시켰으며, Gi의 경우는 이들을 각각 35.5%와 34.1% 감소시켰다. 그러나 NRM에 bicuculline을 주입한 경우는 후각세포 반응도에 영향을 미치지 않았다. 따라서 이들 결과는 PAG나 Gi에서 모르핀 작용에 의한 효과가 각 부위에서 GABA성 체계를 매개하여 이루어질 것임을 시사한다.

PAG-bicuculline나 Gi-bicuculline에 의한 억제효과가 발휘되는데 있어서 각각 Gi나 PAG에서의 내인성아편제 작용이 수반되는지를 조사하였다. 이를 위하여 먼저 PAG에 bicuculline methchloride(20~50 ng)를 주입하거나, PAG에 bicuculline를 그리고 Gi에 naloxonazine(μ -opioid receptor antagonist, 20~50 ng)를

함께 주입하고 10분 경과 후에 두 경우간에서 기계 자극에 의한 후각세포의 유발반응을 비교하였다. PAG-bicuculline은 약물 주입전 대조값에 비하여 후각세포의 brush 및 pinch 유발반응을 각각 36.8%와 42.2% 억제시켰으며, PAG-bicuculline 및 Gi-naloxonazine은 대조값에 비하여 각 유발반응을 39.9%와 36.7% 억제시켰다(Fig. 2A). 한편 Gi에 bicuculline를 주입한 경우와 Gi에 bicuculline를 그리고 PAG에 naloxonazine를 함께 주입한 경우에 후각세포에서 관찰된 유발반응의 억제 정도는 약물 주입전의 대조값에 비

하여 전자의 경우는 brush 및 pinch 유발반응을 각각 37.9%와 40.3%, 그리고 후자의 경우는 각각 13.7%와 12.1% 억제시켰다(Fig. 2B).

3) 뇌간내 GABA성 체계를 통한 하행성 억제효과를 중재하는 척수내 신경로

본 실험에서는 뇌간내 GABA성 체계를 통해 척수 후각으로 하행하는 억제성 신경로의 척수내 경로를 척수의 부분절단 효과를 조사함으로써 알아보았다. Gi에 주입한 bicuculline은 후각세포의 반응도를 억제하였는데, 기록부위와 동측에서 척수백질(C2~C3)의 dorsolateral funiculus(DLF) 부위를 절단한 후에는 Gi에 주입한 bicuculline이 후각세포의 반응도를 억제하지 못하였다(Fig. 3). 즉 Gi에 bicuculline의 주입은 후각세포에서 관찰된 brush 및 pinch 유발반응을 주입 전에 비하여 각각 39.9%와 45.3% 감소시켰으나, DLF 절단 후에는 bicuculline 주입에 의하여 유발반응이 거의 억제되지 않았다(bicuculline 주입 전의 유발반응에 비하여 각각 9.9%와 4.4% 감소).

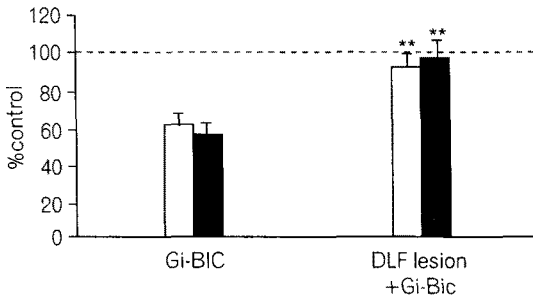


Fig. 3. Effects of a transection of DLF on Gi-bicuculline produced suppression of WDR neuron responses. Results represent the effects of an ipsilateral transection of the dorsolateral funiculus(DLF) of the cervical spinal cord(C2~C3) on suppression of brush- (white bars) and pinch-evoked responses (black bars) of spinal WDR neurons observed with microinjection of bicuculline methchloride(20~50 ng) into Gi(Gi-BIC). Data are presented as percentage of control responses(total impulses in 10-sec brush or pinch stimulation) obtained before a transection of the DLF. ***P<0.05; significantly different from the Gi-BIC.

고찰

PAG와 Gi에서 내인성아편제의 작용이 진통작용과 관련되어 있음은 여러 실험결과에 의하여 확인된 바 있다. 즉 이들 부위에는 아편성펩타이드와 이들에 대한 수용체가 다량 존재하며, 이 부위에 아편성펩타이드를 주입하면 진통효과가 발휘됨이 관찰되었다.^{20~22} 한편 뇌간부위에서의 내인성아편제 작용에 의한 진통작용이 척수에 존재하는 신경세포 활동을 억제함으로써 발휘될 것임은 동물실험에서 뇌내실에 주입한 아편제가 통각행동을 억제시킬 뿐 아니라 척수내 후각세포의 c-fos 발현을 감소시킴을 관찰함으로써 확인되었다.^{23,24} 본 연구에서도 PAG나 Gi에 주입한 모르핀이 척수후각세포의 반응도 억제를 보였는데, 이는 이들 부위에서의 모르핀 작용이 척수후각세포 반응도에 영향을 미쳐 신경병증성통증에 대한 진통효과를 발휘할 것임을 시사한다.

뇌간내에서 내인성아편제의 작용에 의한 진통작용에 GABA성 체계가 관련되었을 것임이 여러 실험결과에 의하여 제시되었다. 즉 진통효과 발휘에 관여하는 뇌간부위에 GABA수용체 길항제를 주입하면 역시 진통작용을 보이며, 뇌간부위에서 아편제의 작용은 GABA성 중간뉴런의 신경활동 억제이며, 아편제의 시냅스후세포에 대한 작용은 억제성임이 보고되었다.^{14~17} 본 실험에서도 GABA-A 수용체의 길항제인 bicuculline이나 모르핀을 PAG나 Gi에 주입한 결과 척수후각세포의 반응도가 억제됨을 관찰하였는데, 이는 이들 부위에서 GABA성 중간뉴런에 의하여 tonic하게 억제 당하고 있던 투사성 뉴런이 모르핀에 의한 GABA성 중간뉴런의 억제에 의하여 탈억제된 결과 활성화되어 척수후각세포의 반응도 억제에 관여하기 때문일 것으로 설명되어질 수 있다.

뇌간내에서 PAG는 Gi를 포함하는 전복부연수(rostroventral medulla, RVM)와 연결성뉴런에 의하여 상호 연결되어 있는데, 특히 PAG로부터 RVM로 투사되는 뉴런은 glutamate나 aspartate와 같은 흥분성 아미노산을 신경전달물질로 사용하며 PAG내에 존재하는 GABA성 뉴런은 RVM으로 투사되지 않음이 보고되었다.^{25,26} 또한 앞에서 PAG와 Gi에서의 아편제 작용이 GABA성 중간뉴런을 중재하여 이루어질 수 있음을 언급하였다. 본 연구에서 관찰한 또 다른

사실은 Gi에 주입한 bicuculline에 의한 척수후각세포 반응도 억제는 PAG에 μ -opioid 수용체 길항제인 naloxonazine을 주입한 결과 그 억제 정도가 일부 감소하였으나, PAG로의 bicuculline 주입에 의한 척수 후각세포반응도 억제는 Gi에 주입한 naloxonazine에 의해 영향을 받지 않았다. 이 결과는 Gi에서의 GABA성 중간뉴론을 매개하는 아편제의 작용이 척수뿐만 아니라 PAG에도 그 영향을 미칠 수 있는 반면, PAG에서의 GABA성 중간뉴론을 매개하는 아편제의 작용은 Gi에 영향을 미치지 않을 것임을 시사한다. 특히 후자의 사실로 미루어 보아 앞서 PAG에서 Gi로 투사된다고 보고된 흥분성아미노산성 뉴론은 Gi에서의 아편제 작용에 관여하지 않을 것임을 추측할 수 있다.

뇌간으로부터 척수로 투사되는 신경로는 척수의 dorsolateral funiculus(DLF)나 ventrolateral funiculus (VLF)를 통하는데, DLF를 통한 하행성 신경로는 척수에서 억제성으로 작용하며 VLF를 통한 신경로는 흥분성으로 작용함이 보고되었다.^{27~29)} 본 연구에서도 Gi에 주입한 bicuculline에 의한 척수후각세포의 반응도 억제가 DLF 절단에 의하여 그 억제효과가 사라짐을 관찰하였는데 이는 이러한 억제효과가 주로 척수의 DLF를 통하여 이루어짐을 의미한다. 본 실험에서 관찰된 이들 결과는 뇌간내 GABA성 체계를 통한 척수에서의 억제작용이 척수의 DLF를 거쳐 발휘될 것임을 시사한다.

결론적으로 뇌간의 PAG나 Gi로부터 척수후각으로 투사되는 억제성 신경로는 이들 핵부위에서 GABAergic 중간뉴론에 의하여 tonic하게 억제되며 내인성 아편제는 아마도 이러한 tonic 억제를 억제함으로써 이들 하행성 억제신경로를 활성화시키는데, 이때 활성화되는 신경로에는 PAG-척수, Gi-척수 그리고 Gi-PAG-척수 신경로가 포함되는데 이들은 척수의 DLF를 통해 하행하여 척수후각세포의 반응도를 억제함으로써 신경병증성통증에 대한 진통효과를 발휘하는데 공헌할 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1) Chung K, Kim HJ, Na HS, Park MJ, Chung JM: Abnormalities of sympathetic innervation in the area of an injured peripheral nerve in a rat model of

neuropathic pain. *Neurosci Lett* 1993; 162: 85-8.

2) Kajander KC, Wakisaka S, Bennett GJ: Spontaneous discharge originates in the dorsal root ganglion at the onset of a painful peripheral neuropathy in the rat. *Neurosci Lett* 1992; 138: 225-38.

3) Palecek J, Dougherty PM, Kim SH, Paleckova V, Lekan H, Chung JM, et al: Responses of spinothalamic tract neurons to mechanical and thermal stimuli in an experimental model of peripheral neuropathy in primates. *J Neurophysiol* 1992; 68: 1951-66.

4) Shir Y, Seltzer Z: Effects of sympathectomy in a rat model of causalgiform pain produced by partial sciatic nerve injury in rats. *Pain* 1991; 45: 309-20.

5) Stux G, Pormeranz B: Basics of acupuncture. 2nd ed. Berlin, Springer-Verlag. 1991, pp4-55.

6) Willis WD: Control of nociceptive transmission in the spinal cord. In: Ottoson D ed. *Progress in sensory physiology* 3. Berlin, Springer-Verlag. 1982, pp8-103.

7) Lee SH, Kayser V, Desmeules J, Guilbaud G: Differential action of morphine and various opioid agonists on thermal allodynia and hyperalgesia in mono-neuropathic rats. *Pain* 1994; 57: 233-40.

8) Meyer GA, Fields HL: Causalgia treated by selective large fiber stimulation of peripheral nerve. *Brain* 1972; 95: 163-8.

9) Portnoy RK, Foley KM, Inturrisi CE: The nature of opioid responsiveness and its implications for neuropathic pain: a new hypothesis of opioid infusions. *Pain* 1990; 43: 273-86.

10) Vecht CJ: Nociceptive nerve pain and neuropathic pain. *Pain* 1989; 39: 243-4.

11) Yamamoto T, Yaksh TL: Spinal pharmacology of thermal hyperalgesia induced by incomplete ligation of sciatic nerve. *Anesthesiology* 1991; 75: 817-26.

12) Leem JW, Park ES, Paik KS: Electrophysiological evidence for the antinociceptive effects of transcutaneous electrical stimulation on mechanically evoked responsiveness of dorsal horn neurons in neuropathic rats. *Neurosci Lett* 1995; 192: 197-200.

13) Baik-Han EJ, Hur CR, Chung Y, Leem JW, Paik KS: Antinociceptive effect of transcutaneous electrical nerve stimulation on dorsal horn neurons in a rat model of neuropathic pain. *Soc Neurosci Abstr* 1994; 20: 553.

14) Depaulis A, Morgan MM, Liebeskind JC: GABAergic modulation of the analgesic effects of morphine microinjected in the ventral periaqueductal gray matter of the rat. *Brain Res* 1987; 436: 223-8.

- 15) Heinricher MM, Morgan MM, Fields HL: Direct and indirect actions of morphine on medullary neurons that modulate nociception. *Neuroscience* 1992; 48: 533-43.
- 16) Mason P, Back SA, Fields HL: A confocal laser microscopic study of enkephalin-immunoreactive appositions on to physiologically identified neurons in the rostral ventromedial medulla. *J Neurosci* 1992; 12: 4023-36.
- 17) Pan ZZ, Williams JT, Osborne PB: Opioid actions on single nucleus raphe magnus neurons from rat and guinea pig in vitro. *J Physiol* 1990; 427: 519-32.
- 18) Leem JW, Choi Y, Gwak YS, Nam TS, Paik KS: Effects of electrical stimulation of brainstem nuclei on dorsal horn neuron responses to mechanical stimuli in a rat model of neuropathic pain. *Korean J Physiol & Pharmacol* 1997; 1: 241-9.
- 19) Paxinos G, Watson C: The rat brain in stereotaxic coordinates. New York, Academic Press. 1986, pp1-150.
- 20) Bowker RM, Abbott LC, Dilts RP: Peptidergic neurons in the nucleus raphe magnus and the nucleus gigantocellularis: their distribution, interrelationships, and projections to the spinal cord. In: Pain modulation. Fields HL, Besson J-M eds. Amsterdam, Elsevier. 1988, pp95-127.
- 21) Millan MJ, Czlonkowski A, Millan MH, Herz A: Activation of periaqueductal grey pools of beta-endorphine by analgetic electrical stimulation in freely moving rats. *Brain Res* 1987; 407: 199-203.
- 22) Miller RJ: Peptides as neurotransmitters: focus on the enkephalins and endorphines. *Pharmacol Therapeut* 1981; 12: 73-108.
- 23) Gogas KR, Presley RW, Levine JD, Basbaum AI: The antinociceptive action of supraspinal opioids results from an increase in descending inhibitory control: correlation of nociceptive behavior and c-fos expression. *Neuroscience* 1991; 42: 617-28.
- 24) Hammond DL, Presley R, Gogas KR, Basbaum AI: Morphine or U-50,488 suppresses fos protein-like immunoreactivity in the spinal cord and nucleus tractus solitaris evoked by a noxious visceral stimulus in the rat. *J Comp Neurol* 1992; 315: 244-53.
- 25) Aimone LD, Gebhart G: Stimulation-produced spinal inhibition from the midbrain in the rat is mediated by an excitatory amino acid neurotransmitter in the medial medulla. *J Neurosci* 1986; 6: 1803-13.
- 26) Reichling DB, Basbaum AI: Contribution of brainstem GABAergic circuitry to descending antinociceptive controls. I. GABA-immunoreactive projection neurons in the periaqueductal gray and nucleus raphe magnus. *J Comp Neurol* 1990; 302: 370-7.
- 27) Pubols LM, Simone DA, Bernau NA, Atkison JD: Anesthetic blockade of the dorsolateral funiculus enhances evoked activity of spinal dorsal horn neurons. *J Neurophysiol* 1991; 66: 140-52.
- 28) Sandkühler J, Fu Q-G, Zimmermann M: Spinal pathways mediating tonic or stimulation-produced descending inhibition from the periaqueductal gray or nucleus raphe magnus are separate in the cat. *J Neurophysiol* 1987; 58: 327-41.
- 29) Zhuo M, Gebhart GF: Characterization of descending facilitation and inhibition of spinal nociceptive transmission from the nuclei reticularis gigantocellularis and gigantocellularis pars alpha in the rat. *J Neurophysiol* 1992; 67: 1599-614.