

Capsaicin의 동통억제효과를 나타내는 기전에 관한 연구

이종은, 김봉옥*, 이원택, 윤호, 박경아

연세대학교 의과대학 해부학교실, 충남대학교 의과대학 재활의학교실*

〈초 록〉

Capsaicin은 동물에 주사하였을 경우 그 화학적 작용으로 인해 일시적으로 통증을 유발시키나, 신생 흰쥐에 투여하였을 경우 통증을 전달하는 신경섬유에 대해 신경독성물질로 작용하여 통각전달을 차단시키기도 한다고 알려져 있다. 이와 같은 작용을 하는 capsaicin을 성숙 흰쥐에 주사하였을 경우 신경조직에 어떠한 영향을 주는가를 살펴보기 위하여 성숙 흰쥐에 capsaicin 50mg/kg을 피하주사한 후 24시간, 48시간, 1주일, 1개월이 경과한 후 중추신경계통, 말초신경계통의 변화를 면역조직화학적 방법 및 전자현미경을 이용하여 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 성숙 동물에 투여한 capsaicin은 중추신경계통에도 영향을 미쳐, 척수 뒤뿔에서 calcitonin gene-related peptide(CGRP)와 substance P에 대한 면역양성반응 구역이 급격히 감소하였으며 주사후 1주일에 가장 좁은 양성반응 구역을 보였다가 1개월이 경과한 후에는 점차 회복되는 양상을 보이기 시작하였다. 척수신경절 세포에서도 capsaicin 주사후에 CGRP와 substance P를 함유한 세포의 숫자가 크게 감소하였으며 이러한 감소현상은 1주일에 가장 심하였다가 1개월이 경과한 후에는 점차 회복되는 양상을 보이기 시작하였다. 전자현미경 소견에서 말초신경 중 capsaicin에 가장 민감하게 반응하는 곳은 요관으로 capsaicin 투여 후 24시간에 심한 변화를 초래하였으며, 척수신경절 세포도 역시 주사후 24시간에 변화를 나타내었다. 말초신경에서의 변화는 capsaicin 투여 후 1주일이 지나서야 뚜렷한 변화를 보였으며 주사 후 1개월이 경과한 후에는 점차 회복되는 양상을 보이기 시작하였다.

이와 같은 결과로 미루어 capsaicin이 동통억제효과를 나타내는 기전은 척수신경절과 척수 뒤뿔에서 통증을 전달하는 B신경세포의 감소와 통증전달에 관여하는 신경전달물질인 substance P와 CGRP의 감소, 그리고 말초신경 축삭의 파괴 등이 복합적으로 작용한 것으로 생각된다.

찾아보기 낱말 : Capsaicin, 성숙 흰쥐, Substance P, CGRP, 척수뒤뿔, 척수신경절, 말초신경축삭

서 론

Capsaicin은 붉은 고추에서 매운 맛을 내는 성분으로 그 생화학적 구조는 vanillyl 고리와 alkyl사슬이 펩티드 결합에 의해 연결되어 있는 8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide이다. Capsaicin은 화학적 통증을 수반하는 자극물질로, 반응효과는 투여되는 양이나 동물의 발달정도에 따라 다르게 나타나며 (Virus and Gebhart, 1979; Jancso and Kiraly, 1980; 1981), 성숙 동물에 피하주사하였을 경우 다른 자극성 화학물질과 마찬가지로 통증을 수반하는 염증반응을 일으키고, 피부의 화학적 자극에 대해 전반적인 탈감작(desensitization)을 보이는 것으로 보고되고 있다(Szolcsanyi *et al.*, 1975). Capsaicin에 관한 연구는 1940년대에 이미 Jancso가 시작한 바 있으나 1970년대에 와서 Jancso-Gabor에 의하여 신생 흰쥐에 투여한 capsaicin이 척수신경절에서 신경독성물질(neurotoxin)로 작용함

이 알려졌으며, capsaicin을 신생 동물에 투여하였을 경우 무수초신경섬유를 선택적으로 파괴시키므로 동통 전달기전에 변화를 가져올 수 있다는 사실이 알려진 이래 capsaicin에 관하여 널리 연구되고 있는 실정이다(Gamse *et al.*, 1980; Jancso *et al.*, 1980; Cervero and McRitchie, 1981). Capsaicin을 신생 동물에 투여하면 대부분의 직경이 가는 척수신경절세포와 무수초 일차감각신경섬유가 파괴되어 동물들은 더 이상 동통에 대해 적절하게 반응하지 못한다고 한다(Fitzgerald, 1983; Buck and Burks, 1986). 신생 흰쥐에 투여한 capsaicin은 일차감각신경세포를 대량으로 파괴하여 직경이 가는 B신경세포의 경우 70%를, 무수초신경섬유는 95%까지도 파괴시킬 수 있다고 하였다(Jancso *et al.*, 1977; Lawson and Nickels, 1980; Nagy *et al.*, 1980; Scadding, 1980; Crozier *et al.*, 1982). 척수신경절에서 capsaicin은 B형 세포만을 선택적으로 파괴한다는 보고가 있는 반면, A형 세포의 일부도 파괴시킨다는 논문도 발표되어 있다(김규호 *et al.*, 1985). Henry(1976)는 신생 흰쥐에 capsaicin을 5일간 투여한 후 척수의 뒤뿔에서 substance P

* 이 연구는 1994년도 교육부 학술연구비(기초의학)에 의하여 연구되었음.

가 48% 감소하였음을 보고하였고 Hayes와 Tyers(1980)는 81%의 감소를 보고하여 capsaicin의 신경독성효과와 Substance P가 관계가 있음을 발표하였다. 또한 유수신경에 관하여도 전혀 영향을 미치지 않는다는 의견(Scadding, 1980; Jancso and Kiraly, 1981)과, 직경이 가는 유수신경섬유는 파괴된다고 하는 Nagy 등(1981)이나 김규호 등(1985)의 보고가 서로 엇갈리고 있는 실정이다.

통각의 전달에 관여하는 일차구심성 섬유의 신경전달물질로는 substance P와 calcitonin gene-related peptide(CGRP)가 가장 잘 알려져 있다(Pernow, 1983; Salt and Hill, 1983; Amara *et al.*, 1982). Substance P는 11개의 아미노산으로 구성되어 있는 펩타이드로 척수 내에서 통각을 전달하는 것으로 추측되는 아교질(substantia gelatinosa)에는 substance P를 함유한 신경종말이 많이 분포되어 있다고 알려져 있다(Hökfelt *et al.*, 1975; Jessell *et al.*, 1979). 통각전달을 차단하는 물질로 알려져 있는 capsaicin을 주사하면 척수 내에서 substance P의 양이 감소를 초래하며(Holzer *et al.*, 1980; Jancso *et al.*, 1981; Fitzgerald, 1983), 성숙 흰쥐에 capsaicin을 주사하였을 때에도 이와 같은 감소를 보인다고 하였다(Gamse *et al.*, 1981; 1982). 이와 같이 substance P는 통각의 전달과 밀접하게 관계가 있는 것으로 생각되고 있다. CGRP는 calcitonin과 같은 유전자부위에서 생성되는 신경펩타이드로 이를 함유한 신경종말은 여러 말초신경에서 관찰되며, 척수에서는 Rexed I 층판과 II 층판의 일부에 주로 분포하며 통각을 전달하는 것으로 알려진 무수초신경섬유(C 섬유)와 같은 수초섬유(A δ 섬유)에서 발견되는 것으로 알려져 있다(Gibson *et al.*, 1984; Carlton *et al.*, 1987; Chung *et al.*, 1988). 또한 CGRP는 substance P와 같은 신경세포 내에서 발견되며, 일차구심성 섬유에 특수한 신경펩타이드인 것으로 보아 역시 통각의 전달에 중요한 역할을 담당할 것으로 생각되고 있다(Harmann *et al.*, 1988). 이들 두 신경펩타이드는 신생 흰쥐에 capsaicin을 주사하거나 외과적으로 척수 뒤뿌리를 절제하였을 경우 그 양이 크게 감소하는 것으로 보고되고 있다(Barbut *et al.*, 1981; Chung *et al.*, 1988; Lee *et al.*, 1992).

신생 동물에 capsaicin을 투여한 후 capsaicin의 효과를 관찰한 연구가 활발히 이루어진데 비해, 성숙 동물에 투여했을 때는 capsaicin이 전혀 영향을 미치지 않는다고 하여 더 이상의 연구가 진행되지 않았다. 그러나 1981년 Wall과 Fitzgerald는 성숙 동물에 capsaicin을 투여하여 말초신경과 척수에서의 변화를 생리학적으로 관찰한 바 있으며, Chung 등(1985)은 요관을 자배하는 신경의 축삭 손상 등을 보고하였다. 또한 Jancso와 Kiraly(1981)는 생후 1일에서 12일 사이에는 capsaicin의 신경독성 작용이 특히 민감하며, 생후 14일 이후 성숙 동물에서는 신경섬유의 파괴를 관찰할 수 없었다고 하였으며, 그 이전에 Jancso 등(1977)은 성숙 동물에 capsaicin을 투여하면 chemonociception이 감소하나 다시 가역적으로 회복

된다고 하였다. 또한 성숙 동물에 capsaicin을 투여하면 감각전달로(sensory pathway)에 있어서 substance P의 양도 가역적으로 감소한다는 보고(Gamse *et al.*, 1980)와, 이와같이 성숙동물에 투여하였을 경우에는 수주일에서 수개월에 걸쳐 회복되는 양상을 보인다고 보고하였다(Szolcsanyi and Jancso-Gabor, 1976; Gamse *et al.*, 1981; Bitter and LaHann, 1985).

따라서 무수초 일차감각신경섬유의 신경세포는 개체발생학적으로 특별히 capsaicin에 공격을 받는 시기가 있다는 의견이 지배적이다(Jancso-Gabor *et al.*, 1970; Szolcsanyi *et al.*, 1975; Jansco *et al.*, 1977; Gamse *et al.*, 1982; Maggi *et al.*, 1987). Capsaicin의 이와 같은 효과는 투여량에 따라 다르다고 하며(Jancso *et al.*, 1985; Ritter and Dinh, 1988), 일부 연구자들은 성숙 흰쥐에 35~300mg/kg의 capsaicin을 피하주사하였을 경우 척수신경절세포의 B형 세포에서는 미토콘드리아의 붓는 현상(swelling)을 초래하나 A형 세포에서는 이러한 변화를 초래하지 않는다고 하며(Szolcsanyi *et al.*, 1975; Chiba *et al.*, 1986), Jancso 등(1985)도 같은 양을 투여하였을 때 B형 세포에서 심한 퇴행변화를 반영하는 미세구조의 변화를 초래하였다고 하였다. 그러나 Gamse 등(1981)은 capsaicin을 125mg/kg로 주사하였을 경우 최대의 효과를 나타낸다고 하는 반면, Jessell 등(1978)은 950mg/kg 이상을 주사하였을 경우에도 별 변화가 없었다는 등 서로 주장이 다르다. 또한 신생 흰쥐에 capsaicin을 투여하면 일차감각신경섬유와 일차감각신경세포의 영구적인 파괴를 초래하는 반면, 성숙 흰쥐에 투여하였을 경우에는 이와 같은 파괴가 가역적으로 일어난다는 보고들이 있으며, 회복되는 정도와, 회복시기에 대하여도 연구자들에 따라 견해가 다르게 보고되고 있다(Gamse *et al.*, 1981; Salt *et al.*, 1982; Bitter and LaHann, 1985; Maggi *et al.*, 1987; Geppetti *et al.*, 1988). Capsaicin은 통증을 장시간 강력하게 억제하는 효과를 갖고 있으므로(Hayes and Tyers, 1980; Nagy *et al.*, 1981) 진통제(analgesics)로 사용될 수 있는 가능성은 상당히 크다고 할 수 있으나, 이상에서와 같이 성숙 동물에서의 capsaicin의 영향에 관한 연구는 체계적으로 제대로 이루어져 있지 못하고 특히 형태학적인 결과가 뒷받침되지 못하고 있는 실정이다.

Capsaicin이 말초신경이나 중추신경계에 모두 진통작용을 가질 것이라는 보고와, 통증을 전달하는 신경섬유중 특히 C군 신경섬유에 매우 선택적인 작용을 한다는 보고 등으로 미루어 볼 때 capsaicin과 통증 또한 진통작용이 매우 밀접한 관계가 있으리라는 것은 쉽게 생각할 수 있으며 특히 통증을 전달하는 신경의 주된 신경전달물질인 substance P와의 관련성을 생각하여 볼 때 capsaicin의 진통작용에 대한 연구는 기존의 진통효과에 대한 기전과는 다른 특이한 진통작용기전에 대한 존재 가능성을 도출해 낼 수 있는 방법이라 생각된다. 이에 성숙흰쥐에 capsaicin을 투여하였을 때 중추신경계통과 말초신경계통에 미치는 영향 및 형태학적인 변화에 관한 연

구가 선행되어야 하는 바 본 연구에서는 성숙 흰쥐에 capsaicin을 투여한 후 시기에 따라 각 신경조직이 어떠한 손상을 입는지를 알아보기 위하여, 특히 통증을 전달하는 신경섬유에 미치는 영향을 조사하고자 CGRP와 SP에 대한 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 통하여 척수의 일차감각신경섬유의 변화와, 척수신경절의 일차감각신경원의 변화 및 전자현미경을 이용하여 척수와 말초신경계통의 미세구조의 변화를 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

체중 200gm 내외의 성숙 흰쥐(Sprague-Dawley) 암컷 80마리를 사용하였다.

2. 실험방법

가) Capsaicin 주사

성숙 흰쥐에 capsaicin(Sigma chemical co., St. Louis, MO, U.S.A.)을 10% ethanol, 10% Tween 80과 80% 생리 식염수 혼합액에 10mg/ml로 녹여 50mg/kg을 피하주사하였다. 대조군은 같은 방식으로 capsaicin을 뺀 나머지 혼합액을 같은 양 주사하였다. 주사 후, 각각 24시간, 48시간, 1주, 1개월 후에 동물을 희생시켜 면역조직화학 염색을 시행하였다.

나) 광학현미경 표본제작

광학현미경관찰을 위하여는 실험동물을 에테르 마취하에 4% paraformaldehyde(0.1M PBS, pH 7.4)로 판류고정한 후, 고정된 동물에서 제13번쩨 흉수와 척수신경절을 적출하여 일반적인 표본제작과정에 따라 파라핀에 포매하였다. 포매한 척수는 6 μ m 두께로 잘라 면역조직화학 염색을 실시하였다. 척수신경절의 경우에는 8 μ m 두께로 연속절편을 제작하여 면역조직화학 염색을 시행하였다.

다) 면역조직화학 염색

일반적인 면역과산화효소 염색법(Sternberger, 1986)을 이용하여 염색하였다. 척수와 척수신경절표본을 일차항체로 substance P(Peninsula Lab., Belmont, CA, U.S.A.)와 CGRP(Peninsula Lab., Belmont, CA, U.S.A.)에 대한 항혈청을 사용하였다. 이차항체로는 항토끼-염소면역글로불린(GAR, Biogenex Lab., San Ramon, CA, U.S.A.)을 사용하였고, 과산화효소-항과산화효소 복합체(PAP, Biogenex Lab., San Ramon, CA, U.S.A.)를 이용하여 diaminobenzidine(DAB, Sigma chemical co., St. Louis, MO, U.S.A.) 용액으로 발색시켰다.

라) 전자현미경 표본제작

전자현미경 관찰을 위해서는 3% paraformaldehyde-3% glutaraldehyde 용액으로 판류 고정하여, 척수, 척수신경절, 척수 앞뿌리(ventral root of the spinal cord), 뒤푸리(dorsal root)

및 장딴지신경(sural nerve)과 복개신경(saphenous nerve), 그리고 요관(ureter)과 장(intestine)을 적출하여 1% OsO₄ 용액에 후고정한 후, 일반적인 전자현미경 표본제작과정에 따라 epon에 포매하였다. 얇은절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 염색한 후 Hitachi-500, Philips CM-10 전자현미경을 이용하여 관찰하였다.

마) 관찰, 계측 및 분석

성숙 흰쥐에 capsaicin을 주사한 후 시기에 따라 척수에서 substance P와 CGRP함유 신경섬유의 면역양성반응 구역을 영상분석기(Aalytical Measuring System Co., U.K.)의 면적밀도 측정(area densitometry) 프로그램을 사용하여 정량적인 측정치를 비교하였다.

척수신경절은 전체 신경절을 연속절편하여 여섯 절편당 한 절편에서 substance P-함유 신경세포와 CGRP-함유 신경세포의 수를 계수하여 정상군과 capsaicin 주사군에서 비교하였다. 계수는 핵이 뚜렷하게 확인되는 신경세포의 수를 세었고, 이를 Königsmark(1970)의 방법에 따라 보정하였다.

모든 실험결과를 SPSS package program을 이용하여 통계처리하였으며, ANOVA 분석과 일부 결과는 Mann-Whitney U test로 검정하였다.

결과

1. 중추신경계통에 미치는 capsaicin의 동통억제 효과

가) 척수의 CGRP 양성 섬유와 substance P 양성 섬유

척수에서 CGRP함유 신경섬유와 substance P함유 신경섬유의 면역양성반응 구역을 영상분석기의 면적밀도측정(area densitometry) 프로그램을 이용하여 정량적인 측정치를 표 1에 나타내었다. 성숙 흰쥐에 capsaicin을 주사한 경우에 capsaicin이 척수의 CGRP함유 신경섬유와 substance P함유 신경섬유에 크게 영향을 미침을 알 수 있었다. CGRP 양성 섬유는 척수의 Rexed I 층판과 II 층판의 바깥쪽에 강한 양성반응을 보이며(그림 1a), capsaicin을 투여한 경우에는 주사 후 1주일 후까지는 일부위의 양성도가 점차 약해졌다가 주사 후 1개월이 경과하였을 때에는 회복되기 시작하는 것을 관찰할 수 있었다(그림 2). 면역양성반응 구역을 영상분석기를 이용하여 정량화하였더니 주사 후 24시간이 경과한 후에는 양성반응을 보이는 면적이 64.7% 가 감소하였고, 주사 후 48시간과 1주일에는 각각 88.8%, 91.8% 감소하였으며, 주사 후 1개월이 경과한 후에는 면역양성반응 구역이 회복되기 시작하는 경향을 보였다(표 1, 그림 2).

SP 양성 섬유의 경우에도 척수의 Rexed I 층판과 II 층판의 바깥쪽에 양성반응을 나타내며(그림 1b), SP 양성 섬유 역시 capsaicin 주사 후 양성도가 점차 감소하였다가 주사 1개월 후에는 회복되기 시작하였다(그림 3). 이를 영상분석기를 통해 정량화한 결과를 살펴보면 주사 후 24시간 경과한 후에는 양

Table 1. The average area of the CGRP and substance P immunoreactive dorsal horn in 13th thoracic segment of the rat.

| Experimental Group | \ Area of the CGRP immuno- reactive dorsal horn | Area of substance P immu- noreactive dorsal horn |
|--------------------|--|---|
| Control Group | 27120.02±14574.2(100.0) | 14719.55±5423.5(100.0) |
| 24hr Group | 9566.58±1868.8(35.3)* | 5566.58±1868.8(37.8)* |
| 48hr Group | 3040.37±1006.0(11.2)* | 3454.71±1705.1(23.5)* |
| 1 week Group | 2213.56±1532.5(8.2)* | 2893.47±963.9(19.7)* |
| 1 month Group | 8098.45±2388.9(30.0)* | 6132.72±2066.8(41.7)* |

1. Unit is μm^2 , Value is Mean ± S.D.

2. ()안은 정상군을 100으로 하였을 때 실험군 양성 면적의 백분율.

3. * $P < 0.01$, Mann-Whitney U test

성반응을 보이는 면적이 62.2%가 감소하였고, 주사 후 48시간과 1주일에는 각각 76.5%, 80.3%가 감소하였으며, 주사 후 1개월이 경과한 후에는 면역양성반응 구역이 회복되기 시작하여 정상대조군에 비해 41.7%를 차지하였다(표 1, 그림 3). 그러나 SP의 감소폭은 CGRP에 비해 적었다(표 1).

나) 척수신경절세포

제 13번째 흥수의 척수신경절에서 CGRP 면역양성 세포의 수와 SP 면역양성 세포의 수를 계수하여 비교하였다(표 2). CGRP 양성 세포는 정상군에서는 877개였으며, capsaicin 주사 후 24시간에는 신경세포의 수가 851개로 큰 변화가 없었으나, 주사 후 48시간 이후에는 시간이 경과함에 점차 수가 줄어 48시간, 1주일 경과후에는 각각 359개와 20개로 특히 주사 후 1주일에 수의 감소가 가장 두드러졌다(그림 6). 주사 후 1개월이 경과한 후에는 세포의 수가 85개로 주사 후 1주일군에 비해 약간 늘어났으나 정상대조군의 10%에 해당하는 세포 만을 관찰할 수 있었다(표 2, 그림 4).

Substance P-양성 세포의 수는 제 13번째 흥수에서 543개였으며, capsaicin을 주사한 후 24시간이 경과한 경우에는 505개로 세포의 수가 큰 변화가 없었으나, capsaicin 주사 후 48시간에는 203개로 그 수가 약 63% 감소하였으며, 주사 후 1주일이 경과한 후에는 SP 양성 세포의 수가 매우 감소하여 22개로 96%가 감소하였다. 그러나 SP 면역양성 세포의 경우에는 주사 후 1개월이 경과한 경우에 정상대조군의 40%에 해당하는 217개의 세포를 관찰할 수 있었다(표 2, 그림 5).

다) 전자현미경 소견

성숙 흰쥐에 capsaicin을 투여한 후 척수신경절 일차감각 신경원의 미세구조의 변화를 전자현미경을 이용하여 관찰하였다. 척수신경절 세포에는 아무런 변화를 초래하지 않는다는 종래의 통념과는 달리 척수신경절 세포에서도 변화를 확인할 수 있었다.

가장 대표적인 변화는 autophagosome이라 할 수 있는 dense bodies가 증가하는 것으로 세포에 따라 그 정도가 다양하였으며, 심한 것은 내부가 거의 dense bodies로 차 있는 것도 관찰할 수 있었다. 반면에 전혀 그러한 변화를 보이지 않는 세포도 발견되었다. 변화가 주로 야기된 세포는 크기가 작

Table 2. The average number of the CGRP- and substance P- immunoreactive cell in 13th thoracic segment of the rat.

| Experimental Group | \ No. of the CGRP immunoreactive cell | No. of substance P immunoreactive cell |
|--------------------|--|---|
| Control Group | 877 (100) | 543 (100) |
| 24hr Group | 851 (97)* | 505 (93)* |
| 48hr Group | 359 (41)* | 203 (37)* |
| 1 week Group | 20 (4)* | 22 (4)* |
| 1 month Group | 85 (10)* | 217 (40)* |

1. 값은 면역반응 양성 세포의 전체 수를 나타냄.

2. ()안의 숫자는 정상군의 면역반응 양성 세포의 수를 100%로 하였을 때 실험군 면역반응 양성 세포의 백분율.

3. * $P < 0.01$, Mann-Whitney U test

고 어두운 세포로 B형에 속하는 것이 대부분이었다. 이러한 현상은 주사 후 24시간이 경과한 후부터 관찰되었다(그림 6b).

2. 말초신경계통에 미치는 capsaicin의 동통억제 효과에 대한 전자현미경 소견

성숙 흰쥐에 capsaicin을 투여한 경우 무수초신경 중 가장 민감한 반응을 보이는 부위는 요관으로 요관에 분포하는 말초축삭들은 주사 후 24시간에 이미 형태적인 변화를 나타내었다(그림 6a). 즉, 말초축삭이 팽대되어 크기가 매우 커진 축삭들에 신경소관들이 거의 나타나지 않으며 그 내부에 파괴된 세포소기관들로 가득찬 축삭들이 발견되었으며 축삭에 따라서는 autophagosome에 해당하는 dense bodies가 다수 출현하는 것도 눈에 띠었다. 축삭 자체가 팽대되지 않은 것이라도 신경소관의 수가 매우 감소되었거나 기저막이 사라진 축삭들이 다수 관찰되었다. 이러한 무수신경들을 둘러싸고 있는 Schwann세포도 세포소기관들의 파괴현상을 보여 dense bodies의 증가현상이 뚜렷하였다. 이러한 변화는 주사 후 1주일이 경과하였을 때에는 더욱 심하였다(그림 7a).

반면에 척수 뒤편리는 1주일 후에 전체적으로 축삭의 형태가 불규칙하게 일그러진 것들이 다수 관찰되었고 dense bodies의 출현이 종종 눈에 띠었다(그림 7b). 그러나 주사 후 1개월이 경과한 후에는 축삭의 배열이나 형태가 거의 정상 소견을 보였다.

장신경계에 함유된 말초축삭은 종류에 따라 큰 차이를 보였는데 즉, 크기가 아주 작은군에 속하는 축삭들은 capsaicin 투여 후 24시간에 변화를 나타내지 않은 반면 직경이 크고 소포들을 함유한 축삭들은 이미 24시간에 팽대현상을 일으켜 세포질이 균일해지며 세포소기관이 파괴되는 현상을 나타내었다(그림 6c). 하지만 일부 소포를 함유한 세포중에서도 변화를 일으키지 않는 축삭도 있었다. 한편, capsaicin 투여 후 1주일에는 장신경계의 거의 모든 축삭들이 팽대되고 미토콘드리아가 파괴되며 세포소기관들이 없어지는 등 퇴행성변화를 나타내었다(그림 7c).

한편, 말초신경 중 복채신경과 장판지신경을 관찰한 바

capsaicin 투여 24시간 후에는 두 신경 모두에서 큰 변화를 발견할 수 없었으나(그림 6d), 1주일 후에는 무수신경의 변화는 물론 그들을 둘러싼 Schwann 세포의 변화, 즉, 큰포식세포화하는 경향이 뚜렷하였고 주변의 섬유모세포 역시 길게 헛다리를 내는 심한 형태변화를 야기시켰다(그림 7d). 주사 후 1개월이 경과한 후에는 축삭의 형태나 배열이 거의 정상으로 회복되었다.

고 찰

Capsaicin은 화학적 통증을 동반하는 물질로 capsaicin을 생체에 투여하면 심장혈관계통, 호흡계통, 소화계통, 신경계통 등에 다양한 변화를 일으키는 것으로 알려져 있다(Coleridge and Coleridge, 1977; Limlomwongse *et al.*, 1979; Longhurst *et al.*, 1980). Capsaicin의 반응효과는 투여되는 양이나 동물의 발달정도에 따라 다르게 나타나며(Virus and Gebhart, 1979), capsaicin을 신생 흰쥐에 투여하였을 경우 신경독성물질(neurotoxin)로 작용하며 무수초신경섬유를 선택적으로 파괴시켜 동통기전에 관여할 것으로 생각되고 있다(Gamse *et al.*, 1980; Jancso *et al.*, 1980; Cervero and McRitchie, 1981). 성숙 동물에 피하주사하였을 경우에는 다른 자극성 화학물질과 마찬가지로 통증을 수반하는 염증반응을 일으키고 피부의 화학적 자극에 대해 전반적인 탈감작현상(desensitization)이 나타나(Szolcsanyi *et al.*, 1975), 뚜렷한 형태적인 변화는 보이지 않는다고 하였다(Jancso and Kiraly, 1981). 그러나 Wall과 Fitzgerald(1981)는 성숙 동물에 capsaicin을 투여하였을 때 말초신경과 척수에서의 변화를 생리학적으로 관찰한 바 있으며, Chung 등(1985)은 요관을 지배하는 신경의 축삭 손상 등을 보고하였다. 그러나 성숙 동물에 capsaicin을 투여하였을 경우에는 수주일에서 수개월에 걸쳐 회복되는 양상을 보인다는 보고도 있다(Szolcsanyi and Jancso-Gabor, 1976; Gamse *et al.*, 1981). Capsaicin의 이와 같은 효과는 투여량이나 투여 방법에 따라 다르다고 하며(Jancso *et al.*, 1985; Ritter and Dinh, 1988), 본 실험에서는 50mg/kg의 양을 피하주사하였다. 피하주사보다는 복강내주사의 효과가 더 높다고 하며(Gamse *et al.*, 1981), 투여량에 있어서는 연구자들에 따라 의견이 분분하다. 일부 연구자들은 125mg/kg이 가장 큰 효과를 나타낸다고 하며(Gamse *et al.*, 1981), 일부 연구자는 950mg/kg을 주사하여도 큰 변화가 없다고 하였다(Harti, 1988). Geppetti 등(1988)은 125mg/kg를 주사하였을 경우 50mg/kg을 주사하였을 때보다 더 효과적이지 못하였다고 하는 등, 투여량에 있어서는 매우 다양한 방법들이 보고되고 있다. 본 실험에서는 예비실험을 통해 효과를 관찰할 수 있었던 양인 50mg/kg의 양을 피하로 주사하였다. Capsaicin은 신경독성물질로 작용하며, 순간적으로 심한 화학적 통증을 동반하므로 이러한 충격때문에 동물들이 사망하는 경우가 많다. 본 실험에서도 약 40%의

사망율을 나타내었으며, 따라서 동통억제제로 capsaicin을 투여할 경우 투여량이 고려되어야 할 것으로 생각되었다.

Capsaicin을 신생 동물에 투여하면 척경이 작은 척수신경 절세포와 무수초 일차감각 신경섬유가 대부분 파괴되어 동물들은 더 이상 동통에 대해 적절하게 반응하지 못한다고 하며(Fitzgerald, 1983; Buck and Burks, 1986), 신생 흰쥐에 투여한 capsaicin은 일차감각신경세포를 대량으로 파괴하여 척경이 작은 B신경세포의 경우 70%를, 무수초신경섬유는 95%까지도 파괴시킬 수 있다고 하였다(Jancso *et al.*, 1977; Lawson and Nickels, 1980; Nagy *et al.*, 1980; Scadding, 1980; Crozier *et al.*, 1982). 척수신경절에서 capsaicin은 B형 세포만을 선택적으로 파괴한다는 보고가 있는 반면, A형 세포의 일부도 파괴시킨다는 논문도 발표되어 있다(김규호 *et al.*, 1985). Henry(1976)는 신생 흰쥐에 capsaicin을 5일간 투여한 후 척수의 뒤뿔에서 substance P가 48% 감소하였음을 보고하였고 Hayes와 Tyers(1980)는 81%의 감소를 보고하여 capsaicin의 신경독성 효과와 substance P가 관계가 있음을 발표하였다. Substance P와 calcitonin gene-related peptide(CGRP)는 통각의 전달에 관여하는 일차구심성 섬유내에 존재하는 신경전달물질로 이들 펩타이드는 통각전달에 관여하는 것으로 생각되고 있다(Pernow, 1983; Salt and Hill, 1983; Amara *et al.*, 1982). Capsaicin은 일차적으로 통증을 유발시키는 작용이 있으며 반면에 capsaicin은 또한 통증을 장시간 강력하게 억제하는 효과를 갖고 있으므로 진통제(analgesics)로 사용될 수 있는 가능성은 상당히 크나 아직까지 이러한 작용에 대한 보고들에 있어서 주장이 엇갈리고 있고, 성숙 동물에서의 capsaicin의 영향에 관한 연구 또한 체계적으로 이루어져 있지 못하여 이들의 임상적인 활용이 어려울 것으로 생각되었으나, 통증을 전달하는 신경의 주된 신경전달물질인 substance P와의 관련성을 생각하여 볼 때 capsaicin의 진통작용에 대한 연구는 기존의 진통효과에 대한 기전과는 다른 특이한 진통작용기전에 대한 존재 가능성을 도출해 낼 수 있는 방법이라 생각된다.

본 실험에서는 성숙 흰쥐에 capsaicin을 투여한 후 척수와 척수신경절에서의 이들 펩타이드의 변화를 살펴보았다. 성숙 흰쥐에 capsaicin을 투여한 경우에는 주사 후 1주일후까지는 척수 뒤뿔에서 CGRP와 SP에 대한 면역 양성도가 점차 약해졌다가 주사 후 1개월이 경과하였을 때에는 회복되기 시작하는 것을 관찰할 수 있었고, 면역양성반응 구역의 감소폭은 CGRP가 SP에 비해 더욱 심하였다. 척수신경절에서 CGRP 양성 세포와 SP 양성 세포의 수를 세어 비교한 결과에서도 양성세포의 수가 1주일까지 크게 감소하였다가 주사 후 1개월이 경과한 후에는 양성 세포의 수가 증가하였으며, 척수신경절에서도 CGRP 양성세포의 감소폭이 SP 양성 세포보다 더 커졌다. 이와 같은 결과는 척수 뒤뿌리를 절제하였을 경우 substance P는 감소하기는 하지만 완전히 없어지지 않았으며, CGRP의 경우에는 거의 완전히 없어졌다는 Chung *et al.*

(1988)의 결과와 일치하는 결과로, 이것은 substance P의 경우 척수내에 존재하는 내재성신경원에도 존재하므로 일부 남아 있을 수 있으며, CGRP의 경우에는 모두 일차구심성이므로 파괴되는 정도가 더 심하게 나타날 수 있는 것으로 생각되었다. 또한 척수신경절 세포에서 두 펩타이드에 대해 각각 양성인 세포의 수가 주사 후 24시간군에서는 거의 변화를 보이지 않았으며, 오히려 수가 약간 증가한 개체도 있었다. 이같은 결과는 다음과 같은 이유로 생각해 보았다. Capsaicin은 신경 펩타이드들의 축삭이동을 방해하므로(Jancso *et al.*, 1981; Fitzgerald, 1983; Buck and Burks, 1986) 주사초기에는 생성된 물질들이 축삭을 따라 미처 이동하지 못하고 세포체 내에 그대로 남아 있어 세포의 수가 크게 변하지 못하거나 일부 증가하는 양상을 보인 것으로 생각되었다. 또한 본 실험의 결과로부터 척수나 척수신경절에서 통각을 전달하는 신경펩타이드들의 변화는 가역적으로 일어나는 것으로 생각되었고, 이것은 다른 연구자들의 결과와 일치하였다. 그러나 다른 연구자들의 경우 이러한 변화를 시기적으로 관찰하지는 않았으며 본 실험 결과 성숙 흰쥐에 주사하였을 경우 주사 후 1주일에 변화정도가 가장 심하였고, 일부 부위에 따라 달랐지만 주사 후 2주일에서 1개월에 회복되기 시작하였다. 이러한 회복시기에 대해서도 연구자들에 따라 의견이 매우 다양하며, Gamse 등(1981)에 따르면 말초신경계통은 4개월에, 중추신경계통은 9개월에 완전히 회복된다고 하였고, Bittner와 LaHann (1985)은 약 2개월이면 완전하게 회복된다고 하였다. 본 실험에서는 CGRP나 SP에 대한 면역양성반응 구역이 완전하게 회복되는 시기는 관찰하지 못하였는데 이 시기에 대하여는 연구자들에 따라 의견이 달랐고, 이들은 이러한 변화를 시기에 따라 관찰하지 않았기에 본 실험에서는 주사 초기에 시기에 따라 각 신경펩타이드들의 변화를 조사하는 데에 중점을 두었다. 또한 전자현미경을 이용하여 형태학적인 변화를 살펴본 결과, 주사 후 1개월이 경과한 후에 이미 형태학적으로 회복이 되는 것을 관찰할 수 있었다. 형태학적인 변화에 관하여는 뒤에 다시 언급하겠다. 신경펩타이드들의 보충과 형태학적인 회복과의 관계는 아직 확실하게 알려져 있지 않다 (Gamse *et al.*, 1981; Bittner and LaHann, 1985).

또한 capsaicin의 영향에 관하여도 기능적인 면과 형태학적인 면에 관하여 여러 다른 견해들이 제시되고 있는데 일차구심성 신경섬유의 신경펩타이드들의 감소는 많이 보고되어 있으나(Fitzgerald, 1983; Buck and Burks, 1986), 이들은 대부분이 형태학적인 변화를 동반하지 않는다고 하였고, Jancso 등(1985)은 capsaicin이 척수신경절의 B형 신경세포의 퇴행성 변화를 초래한다고 하였으며, Chung 등(1985, 1990)도 성숙 흰쥐에 capsaicin 투여가 요관과 복재신경에 분포하는 축삭을 파괴시킨다고 하였다. 그러나 capsaicin은 일반적으로 일차구심성 신경섬유를 파괴시키며, 일차구심성 신경세포에는 영향을 주지 않는다는 생각이 지배적이었으나, Chung 등(1990)은

이에 대해 capsaicin이 신경세포도 파괴시킬 수 있다는 가능성을 제시하였다. 본 실험에서도 Nissl염색을 통해 척수신경절 세포의 변화를 관찰한 결과, 면역양성반응 구역에 있어서 가장 심한 결과를 보인 주사 1주일군의 경우 신경세포체에서 신경세포의 퇴행성 변화를 나타내는 등 Chung 등(1990)과 같은 소견을 관찰할 수 있었다. 이것은 전자현미경을 통한 미세구조의 변화로도 확인할 수 있었다.

Capsaicin을 성숙 흰쥐에 주사하면 일반적으로 척수신경절 세포는 큰 손상을 받지 않으나 외부 자극에 대한 반응성은 떨어지는 것으로 알려져 있다. Capsaicin이 세포의 파괴없이 어떤 신경전달물질에만 영향을 준다는 견해(Geppetti *et al.*, 1988)와, 많은 양을 투여하였을 때에는 감각신경세포 자체를 파괴시킨다는 보고(Jancso *et al.*, 1985)가 있다. Capsaicin 투여에 의한 신경펩타이드들의 감소현상과 이들의 회복에 관하여는 널리 알려져 있지만 이들 신경펩타이드의 보충과 감각세포의 형태학적인 회복에 관하여는 아직까지 확실하게 알려져 있지 않다. 성숙 흰쥐에 35~300mg/kg의 capsaicin을 투여하였을 경우 척수신경절의 B형 세포에서는 미토콘드리아의 붓는 현상(swelling)을 초래하고(Szolcsanyi *et al.*, 1975; Chiba *et al.*, 1986), Jancso 등(1985)도 B형 세포에서 심한 퇴행변화를 반영하는 미세구조의 변화를 초래하였다고 하였다. Chung 등(1985)은 capsaicin을 투여하였을 경우 요관과 이에 연관된 무수초신경섬유에 심한 파괴를 초래하였다고 하였다.

본 실험에서도 형태학적인 변화를 좀 더 체계있게 관찰하기 위하여 전자현미경을 이용하여 척수, 척수 뒤뿌리, 척수신경절, 장, 요관, 복재신경, 장판지신경 등에서 미세구조의 변화를 관찰하였다. 성숙 흰쥐에 capsaicin을 투여한 경우 무수초신경 중 가장 민감한 반응을 보이는 부위는 요관으로 요관에 분포하는 말초축삭들은 주사 후 24시간에 이미 형태적인 변화를 나타내었으며, 이러한 변화는 1주일까지 계속되다가 주사 후 1개월군의 경우에는 거의 정상 소견으로 되돌아 온 것을 관찰할 수 있었다. 척수신경절 세포에서도 주사 후 24시간부터 dense body가 출현하는 등 형태학적인 변화를 보였으며, 장에서도 심하게 팽대되어 있는 축삭이 관찰되는 등 많은 변화를 관찰할 수 있었다. 그러나 부위에 따라서는 주사 후 24시간에 capsaicin에 대해 전혀 영향을 받지 않는 부위가 있었으며, 말초신경 중 복재신경과 장판지신경의 경우 거의 정상과 유사한 소견을 보였다. 말초신경 중 특히 요관이 잘 영향을 받는 것은 요관에 분포하는 신경섬유의 경우 주변에 결합조직이 거의 발달하지 못해 신경섬유가 capsaicin에 영향받기가 용이하였던 것으로 생각되었다. 주사 후 1주일군에서는 거의 모든 조직에서 심한 형태학적 변화가 관찰되었으며, 초기에는 별 변화를 보이지 않았던 복재신경과 장판지신경에서도 Schwann 세포의 큰포식세포화 현상이 관찰되는 등 심한 형태변이가 관찰되었다. Chung 등(1990)은 capsaicin이 복재신경에는 영향을 주지만 장판지신경에는 별다른 영향을 주지

않는다고 하였는데, 본 연구 결과와 비교해 볼 때 이들 역시 주사 후 초기에만 변화를 관찰하였기 때문이 아닌가 생각되었다. 이러한 형태적인 변화는 주사 후 1개월이 경과한 후에는 거의 모든 부위에서 정상과 같은 소견을 보였다. 본 실험 결과로부터 성숙 흰쥐에 capsaicin을 주사하면 신경펩타이드, 특히 동통전달과 관련이 있는 것으로 생각되는 CGRP나 SP에 대한 면역양성반응 구역의 변화 및 형태학적인 변화를 관찰할 수 있었고 이와 같은 변화는 주사 후 1주일에 가장 심하였으며, 형태학적으로는 주사 후 1개월에 이미 회복되는 것을 관찰할 수 있었다. Capsaicin을 성숙 동물에 투여하였을 때 신경계통에 형태적인 변화를 초래하지 않는다는 종래의 개념과는 달리 심한 퇴행성 변화를 초래하며 신경전달물질에도 극심한 영향을 주었다.

이와 같은 결과들로 미루어 보아 capsaicin은 척수신경절과 척수 뒤틀에서의 통증을 전달하는 B 신경세포의 감소, 통증전달에 관여하는 신경전달물질인 substance P와 CGRP의 감소, 및 말초신경 축삭의 파괴 등 신경조직에 복합적인 영향을 주어 동통억제효과를 나타내는 것으로 생각되었다.

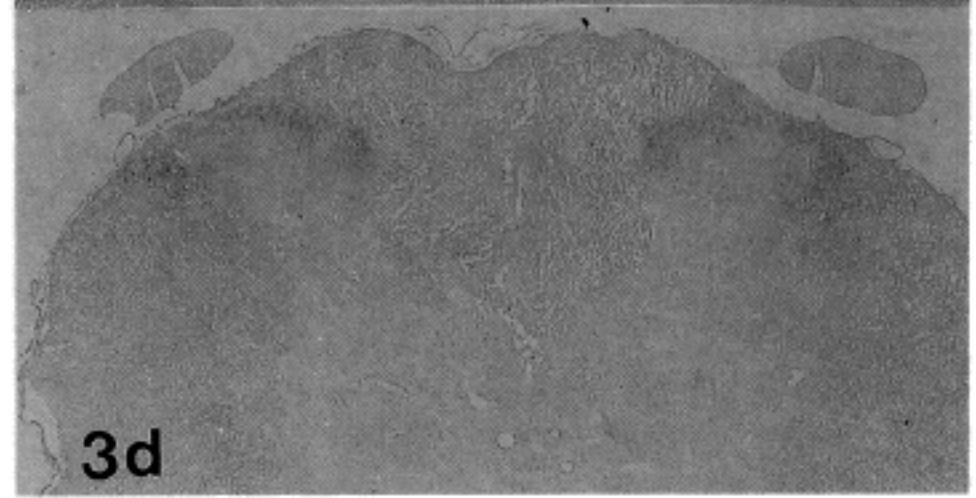
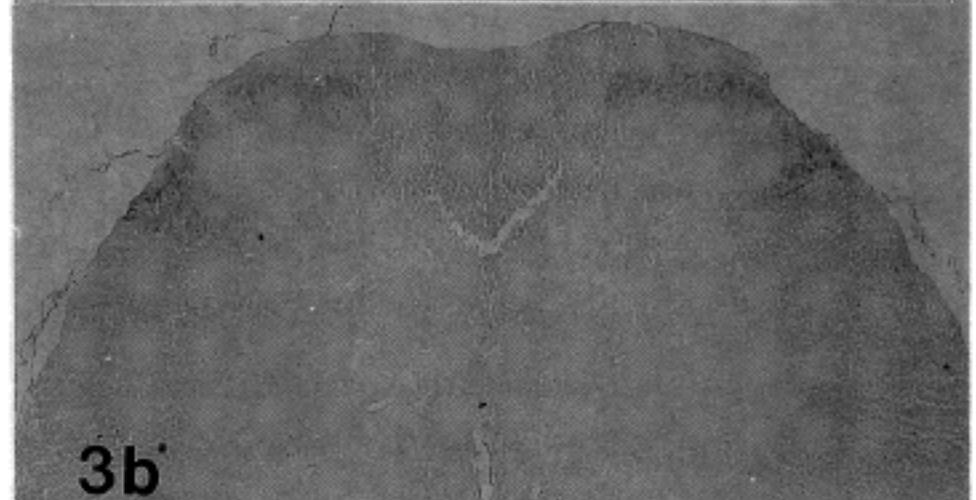
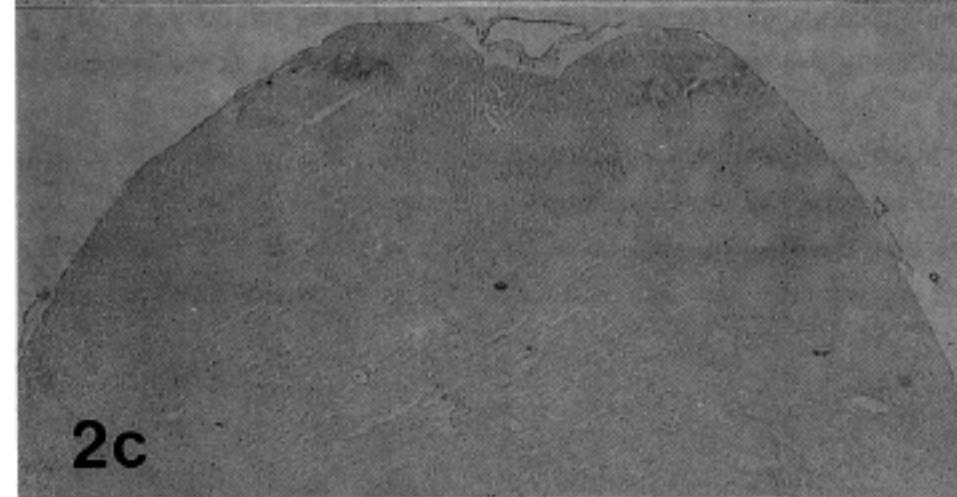
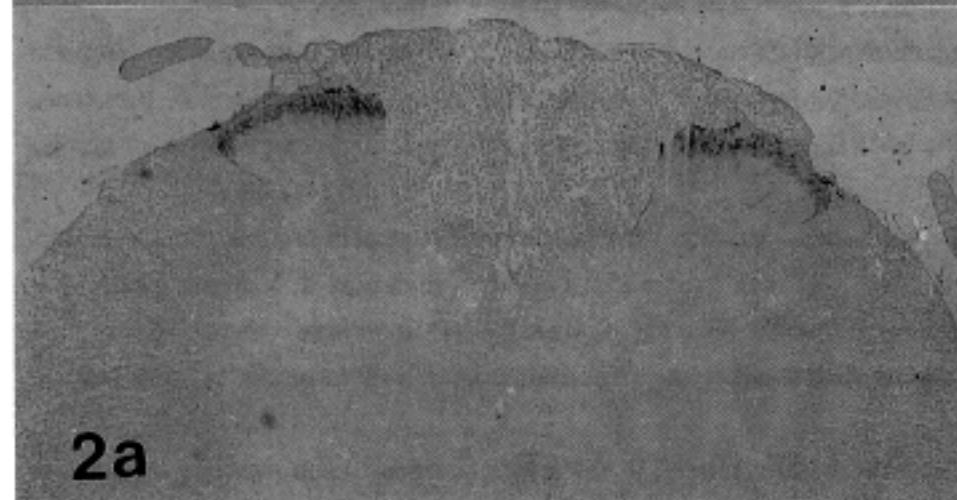
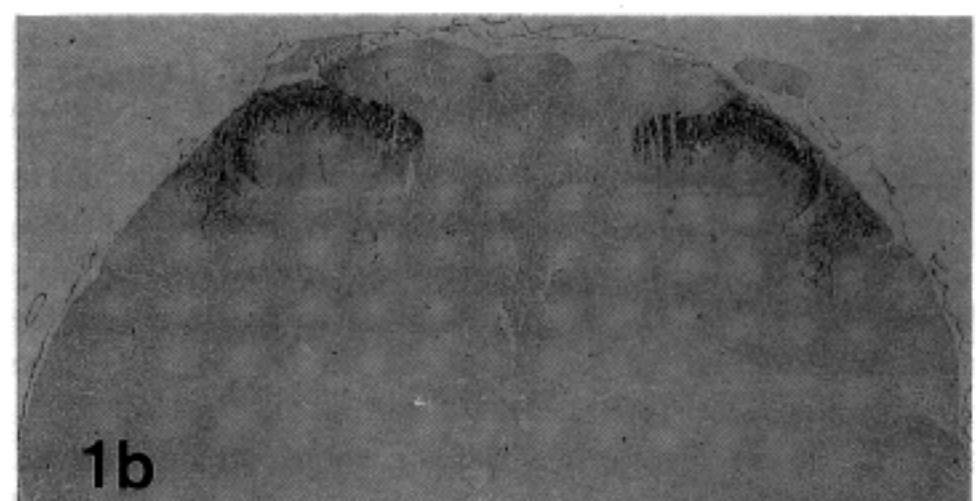
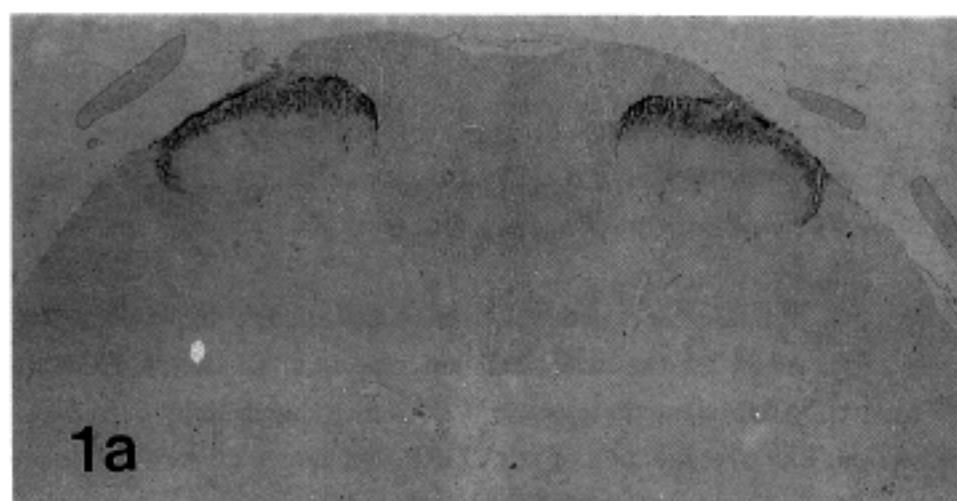
참 고 문 헌

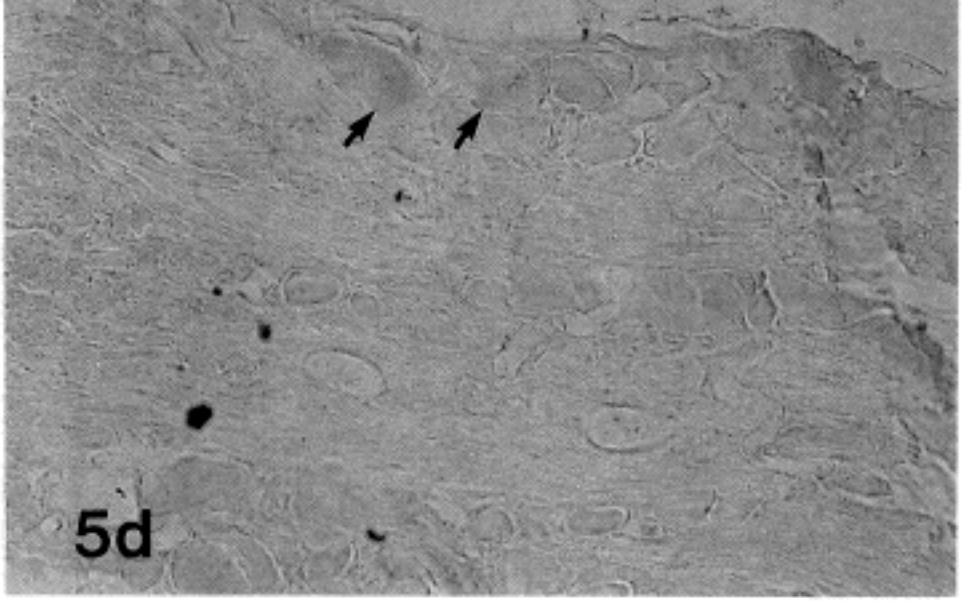
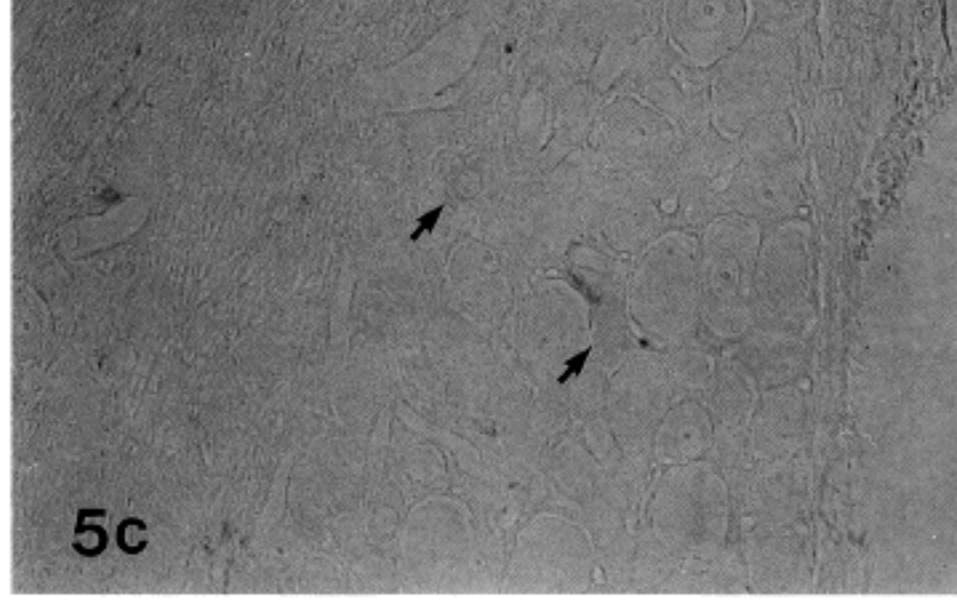
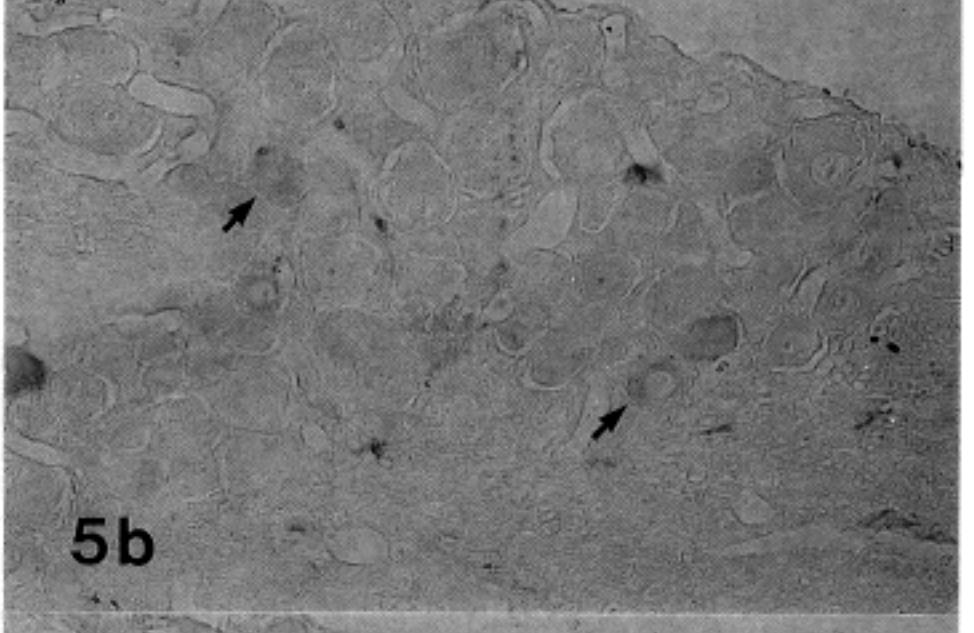
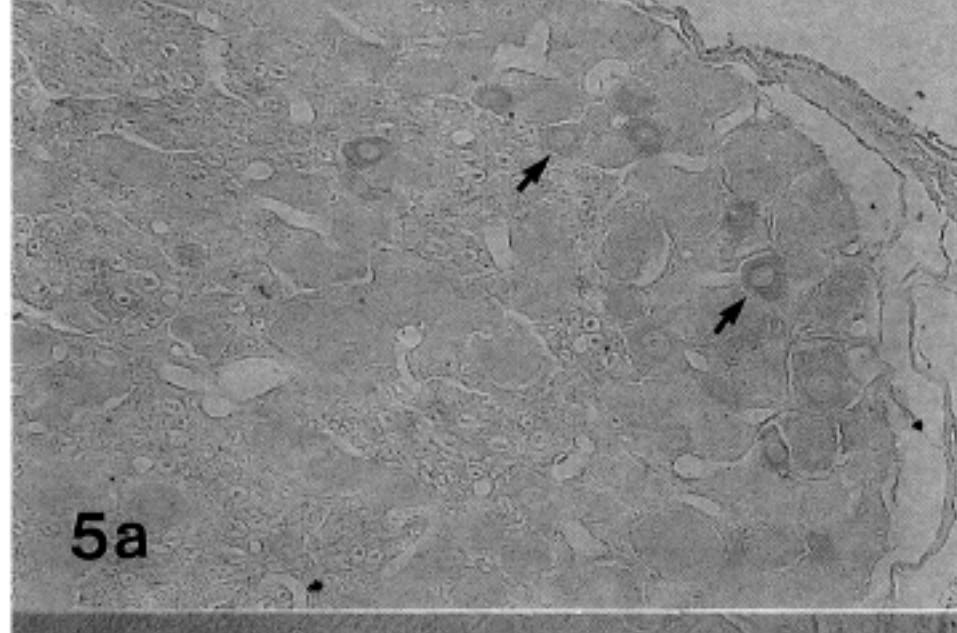
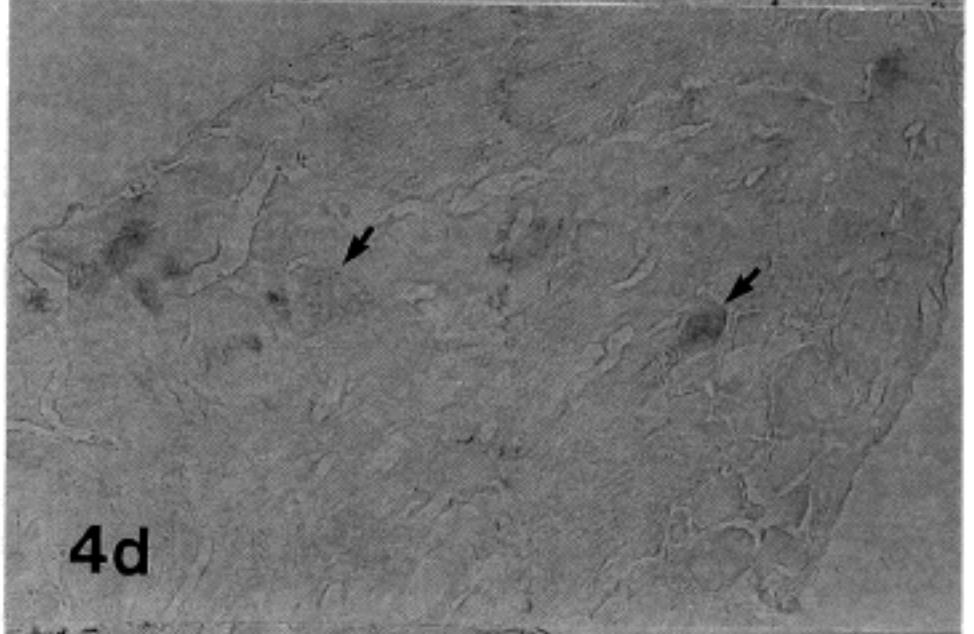
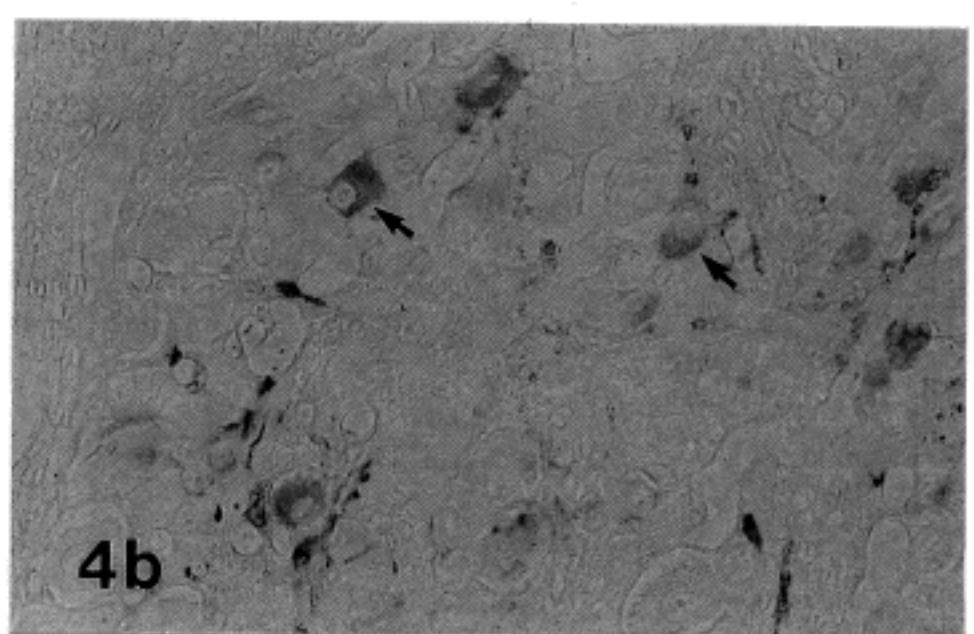
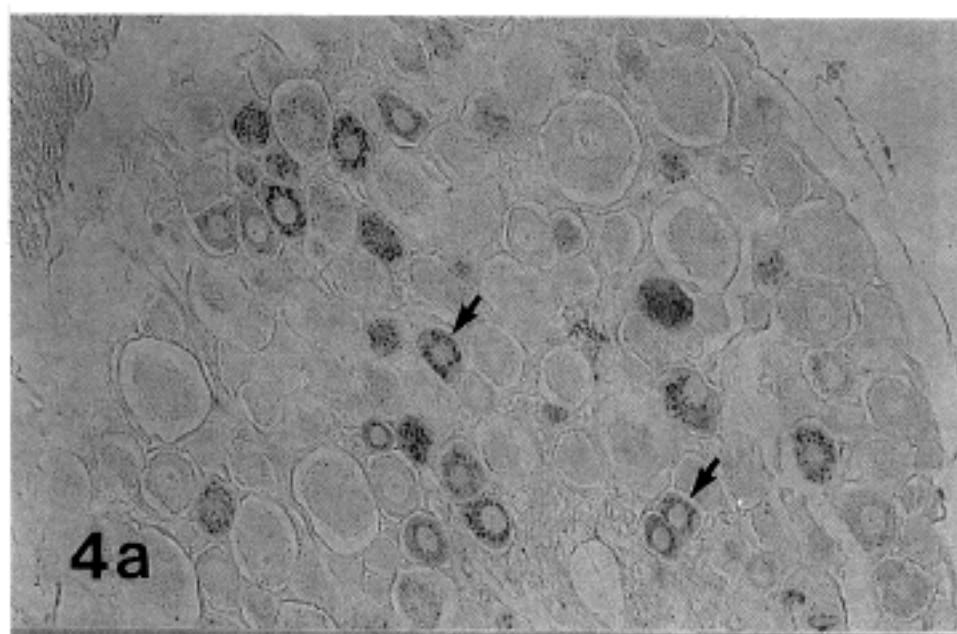
- 김규호, 박승화, 정인혁, 박경아 : Capsaicin이 신경조직에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. *연세의대 논문집* 18(1): 22-34, 1985
- Amara SG, Jonas V, Rosenfelt MG, Ong ES, Evans RM : Alternative RNA processing in calcitonin gene-expression generates m-RNAs encoding different polypeptide products. *Nature* 298: 240-244, 1982
- Barbut D, Polak JM, Wall PD : Substance P in spinal cord dorsal horn decrease following peripheral nerve injury. *Brain Res* 205: 289-298, 1981
- Bittner MA, LaHann TR : Biphasic time-course of capsaicin-induced substance P depletion: failure to correlate with thermal analgesia in the rat. *Brain Res* 322: 305-309, 1985
- Buck SH, Burks TF : The neuropharmacology of capsaicin: Review of some recent observations. *Pharmacol Rev* 38: 179-226, 1986
- Carlton SM, McNeill DL, Coggeshall RE : A light and electron microscopic level analysis of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in the spinal cord of primate: An immunohistochemical study. *Neurosci Lett* 82: 145-150, 1987
- Cervero F, McRitchie HA : Neonatal capsaicin and thermal nociception: a paradox. *Brain Res* 215: 414-418, 1981
- Chiba T, Masuko S, Kawano H : Correlation of mitochondrial swelling after capsaicin treatment and substance P and somatostatin immunoreactivity in small neurons of dorsal root ganglion in the rat. *Neurosci Lett* 64: 311-316, 1986
- Chung JM, Lee KH, Hori Y, Willis WD : Effects of capsaicin applied to a peripheral nerve on the responses of primate spinothalamic tract cells. *Brain Res* 329: 27-38, 1985
- Chung K, Lee WT, Carlton SM : The effects of dorsal rhizotomy and spinal cord isolation on calcitonin gene-related peptide-labeled terminals in the rat lumbar dorsal horn. *Neurosci Lett* 90: 27-32, 1988
- Chung K, Klein CM, Coggeshall RE : The receptive part of the primary afferent axon is most vulnerable to systemic capsaicin in adult rats. *Brain Res* 511: 222-226, 1990
- Coleridge JC, Coleridge HM : Afferent C-fibers and cardiorespiratory chemoreflexes. *Am Rev Respir Dis* 115: 251-256, 1977
- Crozier AC, Hill RG, Salt TE : The effect of capsaicin pretreatment on substance P levels and sensory responses of neurones in the trigeminal nucleus caudalis. *J Physiol(London)* 324: 78P, 1982
- Fitzgerald M : Capsaicin and sensory neurons. A Review. *Pain* 15: 109-130, 1983
- Gamse R, Holzer P, Lembeck F : Decrease of substance P in primary afferent neurones and impairment of neurogenic plasma extravasation by capsaicin. *Br J Pharmacol* 68: 207-213, 1980
- Gamse R, Leeman SE, Holzer P, Lembeck F : Differential effects of capsaicin on the content of somatostatin, substance P and neuropeptides in the nervous system of the rat. *Arch Pharmacol(Weinhaim)* 317: 140-148, 1981
- Gamse R, Petsche U, Lembeck F, Jancso G : Capsaicin applied to peripheral nerve inhibits axoplasmic transport of substance P and somatostatin. *Brain Res* 239: 447-462, 1982
- Geppetti P, Frilli S, Renzi D, Santicioli P, Maggi CA, Theodorsson E, Fanciullacci M : Distribution of calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity in various rat tissue: correlation with substance P and other tachykinins and sensitivity to capsaicin. *Regul Pept* 23: 289-298, 1988
- Gibson SJ, Polak JM, Bloom SR, Sabate IM, Mulderry PM, Ghatei MA, McGregor CP, Morrison JFB, Kelly JS, Evans RM, Rosenfeld MG : Calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in the spinal cord of man and of eight other species. *J Neurosci* 4: 3101-3111, 1984
- Harmann PA, Chung K, Briner RP, Westlund KN, Carlton SM : Calcitonin gene-related peptide in the human spinal cord: A light and electron microscopic analysis. *J Comp Neurol* 269: 371-380, 1988
- Hartl G : *Wirkung von Capsaicin auf afferente peptiderge Nervenfasern: Immunohistochemische Untersuchungen an Ratten, Meerschweinchen und Tauben (Dr rer nat thesis)*. University of Giessen, 1988
- Hayes AG, Tyers MB : Effects of capsaicin on nociceptive heat, pressure and chemical thresholds and substance P levels in the rat. *Brain Res* 189: 561-564, 1980
- Henry JL : Effects of substance P on functionally identified units in cat spinal cord. *Brain Res* 114: 439-451, 1976
- Hökfelt T, Kellerth JO, Nilsson G, Pernow B : Experimental immunohistochemical studies on the localization and distribution of substance P in cat primary sensory neuron. *Brain Res* 100: 235-252, 1975
- Holzer P, Gamse R, Lembeck F : Distribution of substance P in the rat gastrointestinal tract-lack effect of capsaicin pretreatment. *Eur J Pharmacol* 61: 303-307, 1980
- Jancso G, Hökfelt T, Lundberg JM, Kiraly E, Halsz N, Nilsson G,

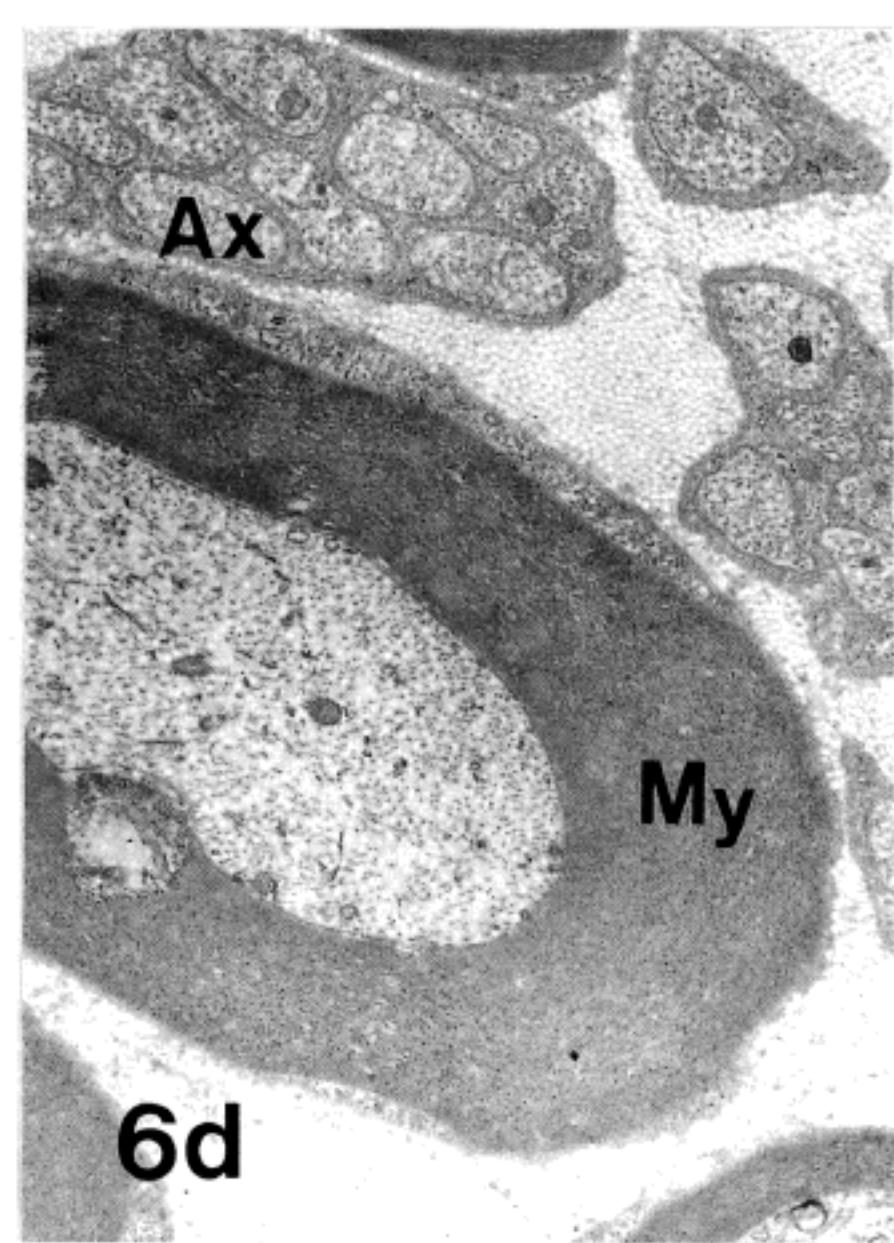
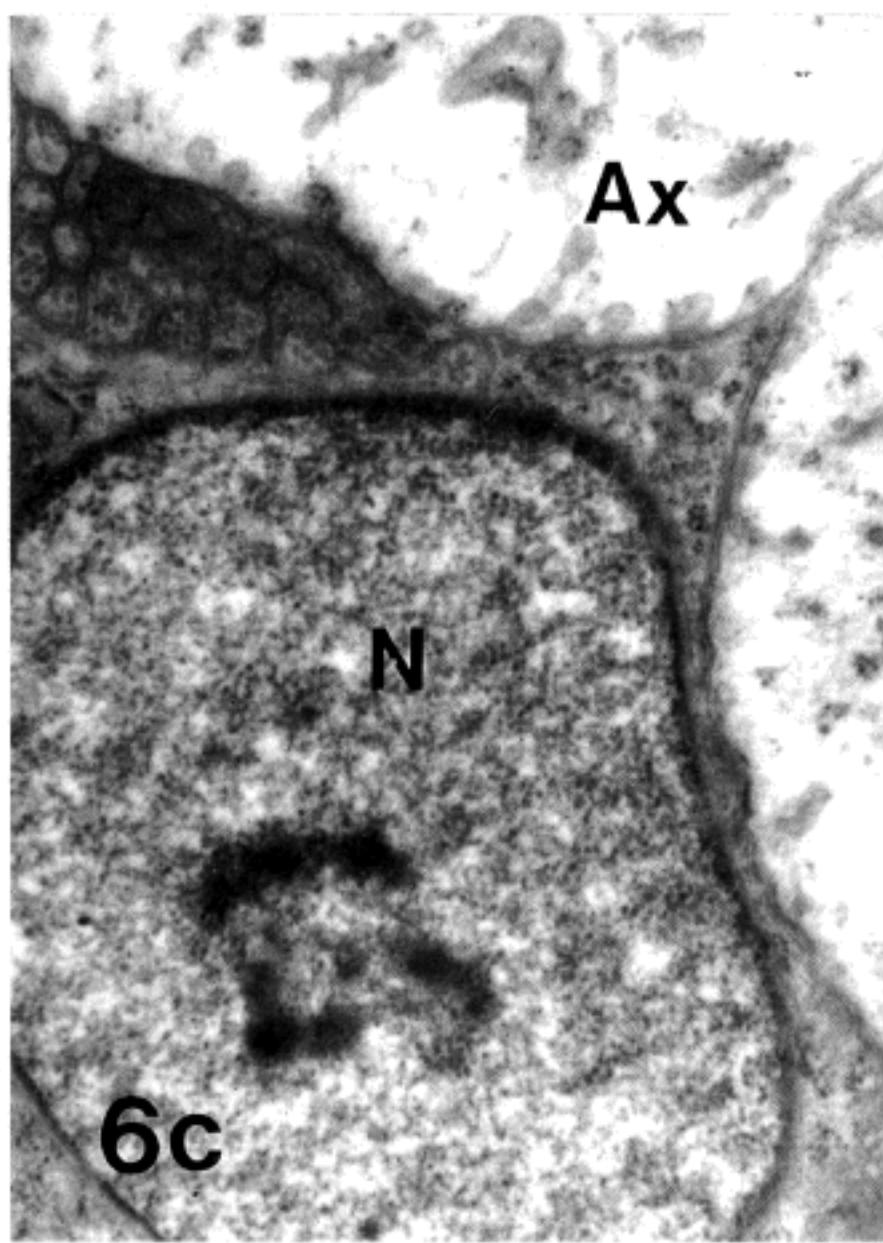
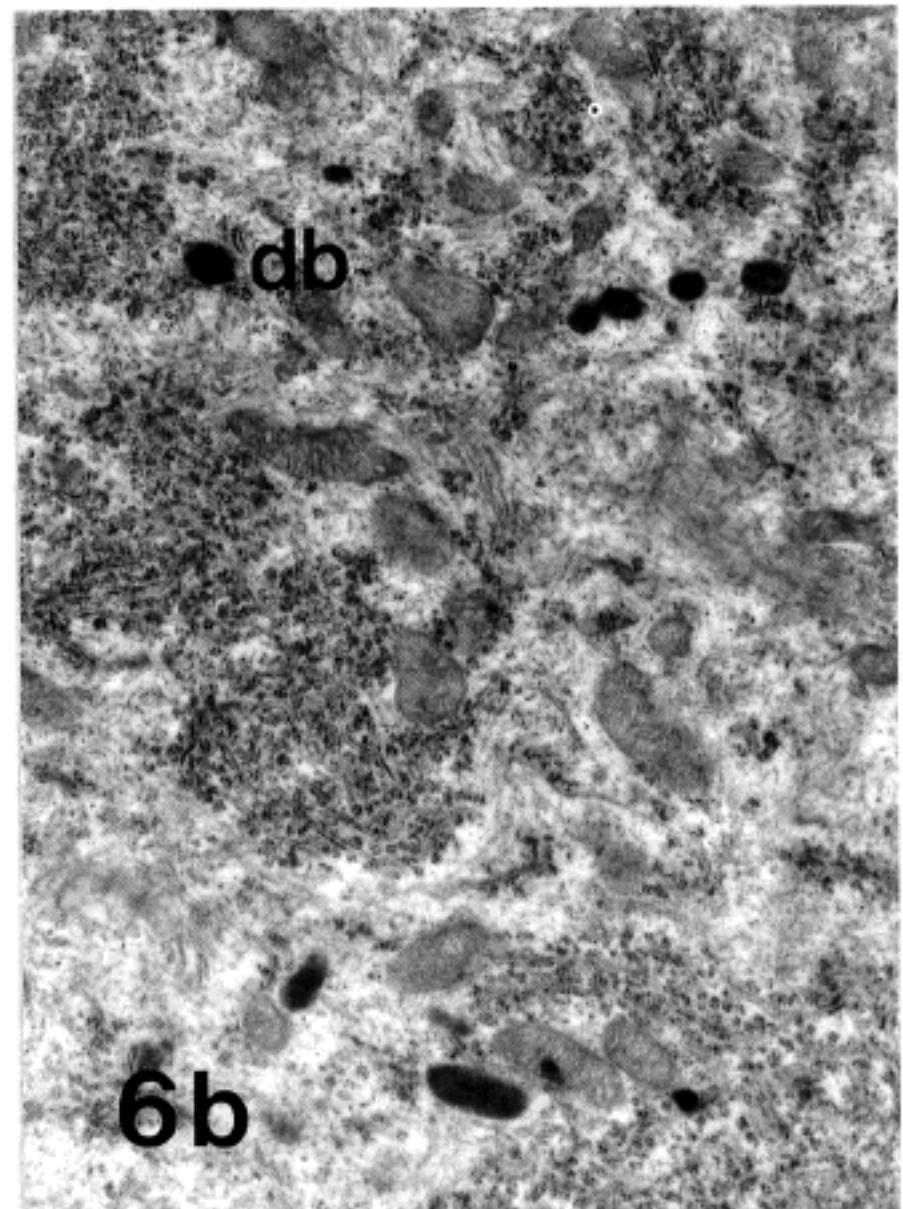
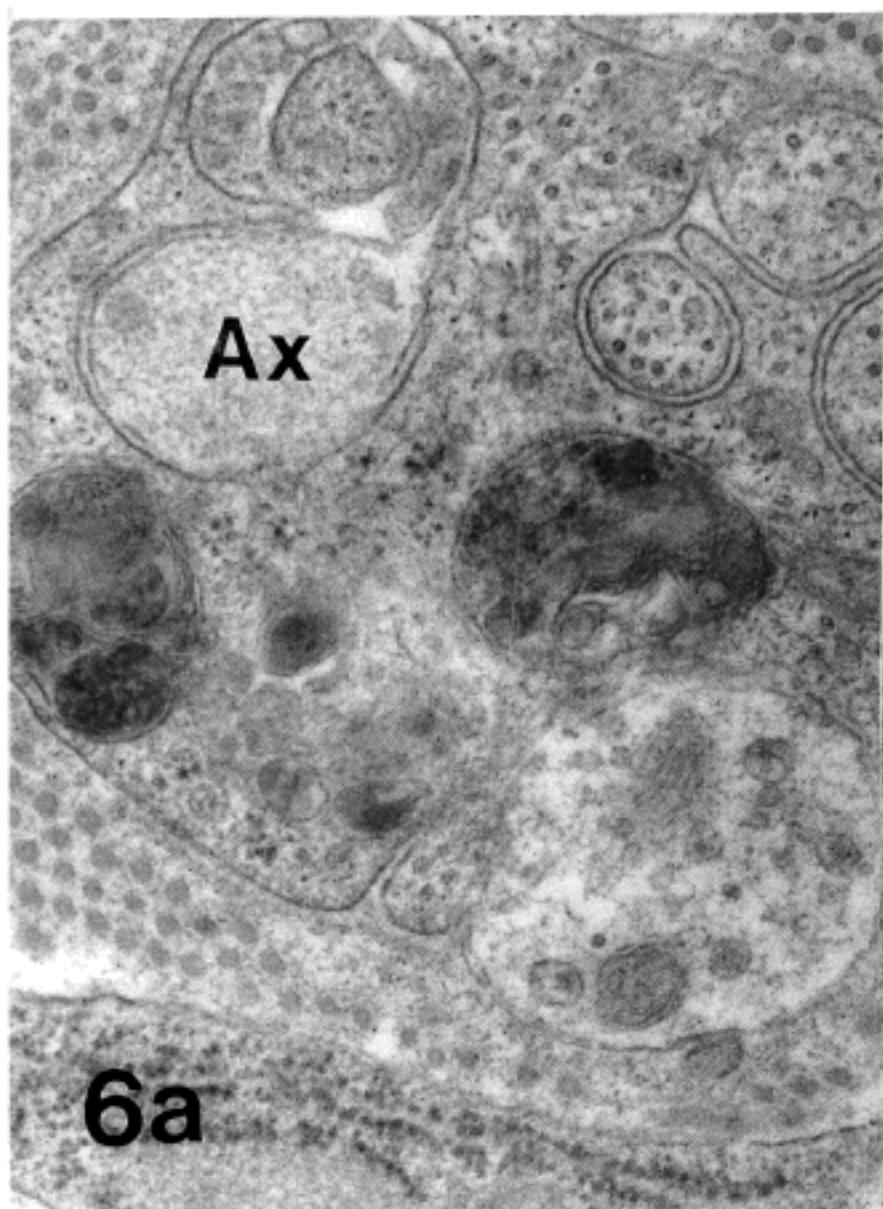
- Terrenius M, Rehfeld J, Steinbusch H, Verhofstad K, Elde R, Said S, Brown M : Immunohistochemical studies on the effect of capsaicin on spinal cord and medullary peptide and monoamine neurons using antisera to substance P, gastrin/CCK, somatostatin, VIP, enkephalin, neurotensin, and 5-hydroxytryptamine. *J Neurocytol* 10: 963-980, 1981
- Jancso G, Kiraly E : Distribution of chemosensitive primary sensory afferents in the central nervous system of the rat. *J Comp Neurol* 190: 781-792, 1980
- Jancso G, Kiraly E : Sensory neurotoxins : Chemically induced selective destruction of primary sensory neurons. *Brain Res* 210: 83-89, 1981
- Jancso G, Kiraly E, Jancso-Gabor A : Pharmacologically induced selective degeneration of chemosensitive primary sensory neurones. *Nature(London)* 270: 741-743, 1977
- Jancso G, Kiraly E, Jancso-Gabor A : Direct evidence for an axonal site of action of capsaicin. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 313: 91-94, 1980
- Jancso G, Kiraly E, Joo F, Such G, Nagi A : Selective degeneration by capsaicin of a subpopulation of primary sensory neurons in the adult rat. *Neurosci Lett* 59: 209-214, 1985
- Jancso-Gabor A, Szolcsanyi J, Jancso N : Irreversible impairment of thermoregulation induced by capsaicin and similar pungent substances. *J Physiol(Lond)* 206: 495-507, 1970
- Jessell TM, Iversen LL, Cuello AC : Capsaicin induced depletion of substance P from primary sensory neurones. *Brain Res* 152: 183-187, 1978
- Jessell TM, Tsungo A, Kanazawa I, Otsuma M : Substance P depletion in the dorsal horn of rat spinal cord after section of the peripheral processes of primary sensory neurons. *Brain Res* 168: 247-295, 1979
- Königsmark BW : *Methods for the counting of neurons*. In Nauta JH, Ebbesson OE, eds. *Contemporary Research Methods in Neuroanatomy*. New York, Springer-Verlag, 1970, pp315-380
- Lawson SN, Nickels SN : The use of morphometric techniques to analyse the effect of neonatal capsaicin treatment of rat dorsal root ganglia and dorsal roots. *Proc Phys Soc Feb*: 19P, 1980
- Lee WT, Lee JE, Yang CH, Park KA : Effect of neonatal capsaicin on the calcitonin gene-related peptide(CGRP) immunoreactive nerve fibers in the dorsal horn of the rat. *Experimental Neurobiology* 1: 13-20, 1992
- Limlomwongse L, Chaitachawong C, Tongyai S : Effect of capsaicin on gastric acid secretion and mucosal blood flow in the rat. *J Nutr* 109: 773-779, 1979
- Longhurst JC, Achton JH, Iwamoto CH : Cardiovascular reflexes resulting from capsaicin stimulated gastric receptors in anesthetized dogs. *Circ Res* 46: 780-785, 1980
- Maggi CA, Santicioli P, Geppetti P, Furio M, Frilli S, Conte B, Facciullacci M, Giuliani S, Meli A : The contribution of capsaicin-sensitive innervation to activation of the spinal vesicovesical reflex in rats : relationship between substance P levels in the urinary bladder and the sensory-efferent function of capsaicin-sensitive sensory neurons. *Brain Res* 415: 1-13, 1987
- Nagy JI, Vincent SR, Staines WMA, Fibiger HC, Reisine TD, Yamamura HI : Neurotoxic action of capsaicin on spinal substance P neurons. *Brain Res* 186: 435-444, 1980
- Nagy JL, Hunt SP, Iversen LL, Emson P : Biochemical and anatomical observation on the degeneration of peptide containing primary afferent neurons after neonatal capsaicin. *Neuroscience* 6: 1923-1934, 1981
- Pernow B : Substance P. *Pharmacol Rev* 35: 86-141, 1983
- Ritter S, Dinh TT : Capsaicin-induced neuronal degeneration: silver impregnation of cell bodies, axons, and terminals in the central nervous system of the adult rat. *J Comp Neurol* 271: 79-90, 1988
- Salt TE, Crozier CS, Hill RG : The effects of capsaicin pretreatment on the responses of single neurons to sensory stimuli in the trigeminal nucleus caudalis of the rat: evidence against a role for substance P as the neurotransmitter serving thermal nociception. *Neuroscience* 7: 1141-1148, 1982
- Salt TE, Hill RG : Neurotransmitter candidates of somatosensory primary afferent fibers. *Neuroscience* 10: 1083-1103, 1983
- Scadding W : The permanent anatomical effects of neonatal capsaicin on somatosensory nerves. *J Anat* 131: 473-484, 1980
- Sternberger LA : *Immunocytochemistry*. 3rd ed. New York, John Wiley, 1986
- Szolcsanyi J, Jancso-Gabor A : Sensory effects of capsaicin congeners II. Importance of chemical structure and pungency in desensitizing activity of capsaicin-type compounds. *Drug Res* 26: 33-37, 1976
- Szolcsanyi J, Jancso-Gabor A, Joo F : Functional and fine structural characteristics of the sensory neuron blocking effect of capsaicin. *Arch Pharmacol(Weinheim)* 287: 157-169, 1975
- Virus RR, Gebhart CF : Pharmacologic actions of capsaicin; apparent involvements of substance P and serotonin. *Life Sci* 25: 1273-1278, 1979
- Wall PD, Fitzgerald M : Effects of capsaicin applied locally to adult peripheral nerve I. Physiology of peripheral nerve and spinal cord. *Pain* 11: 363-377, 1981

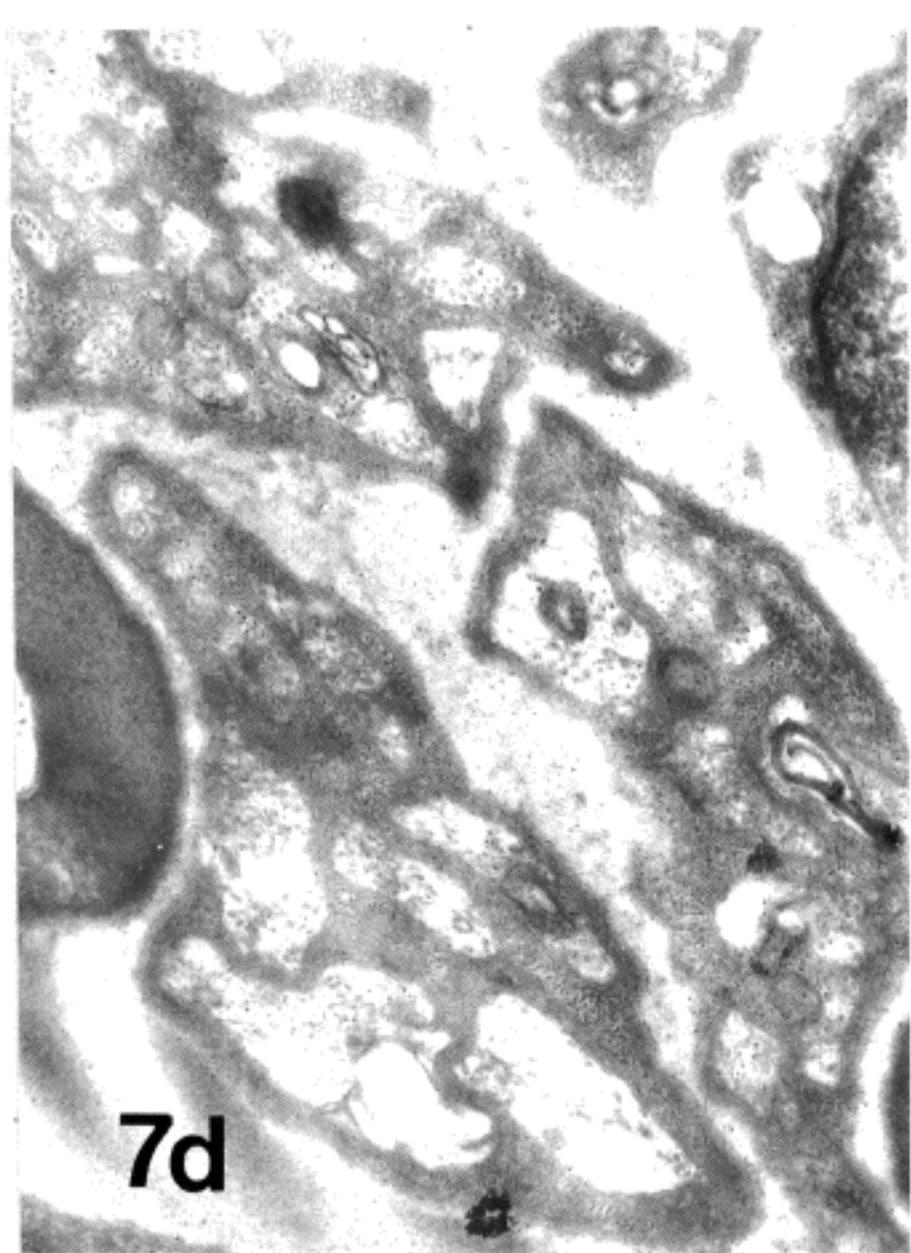
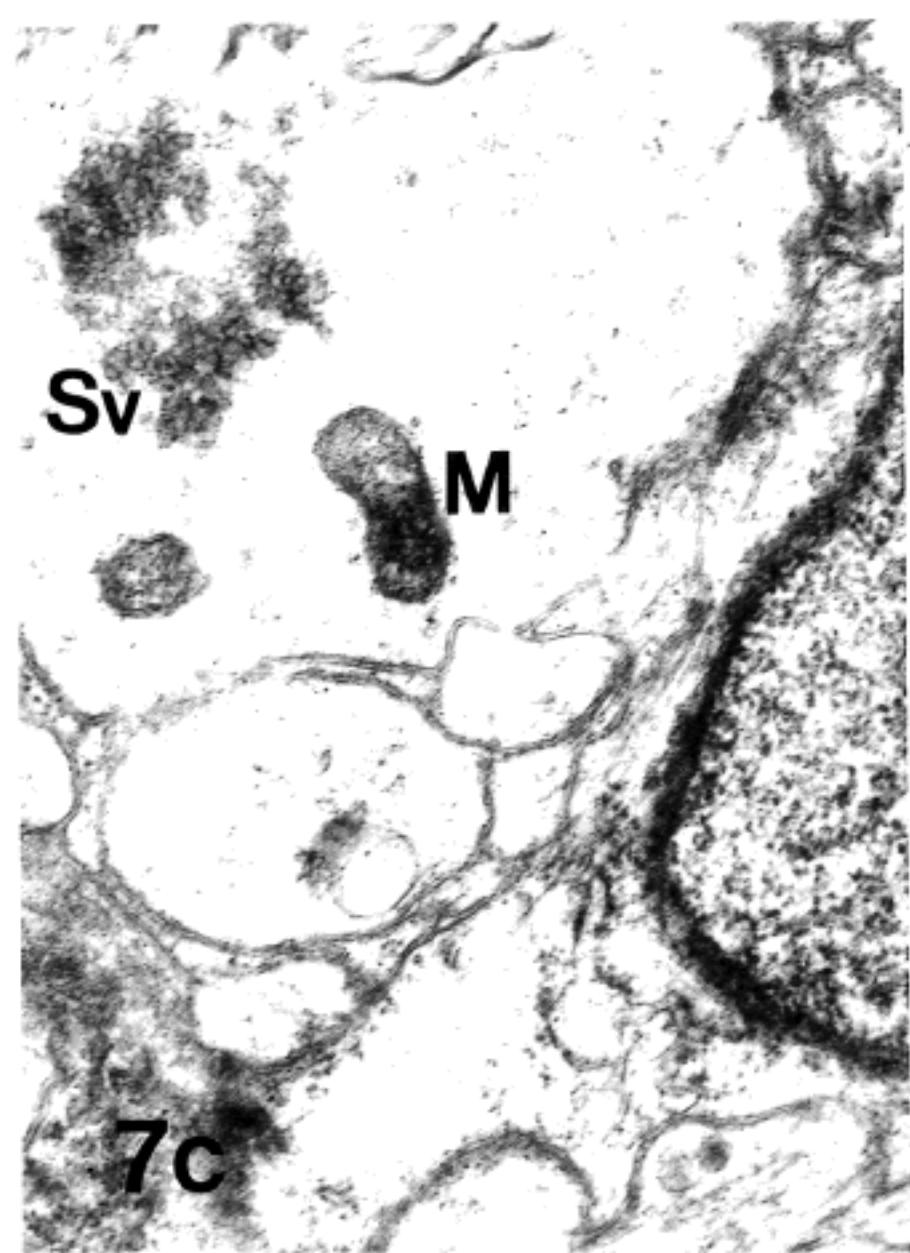
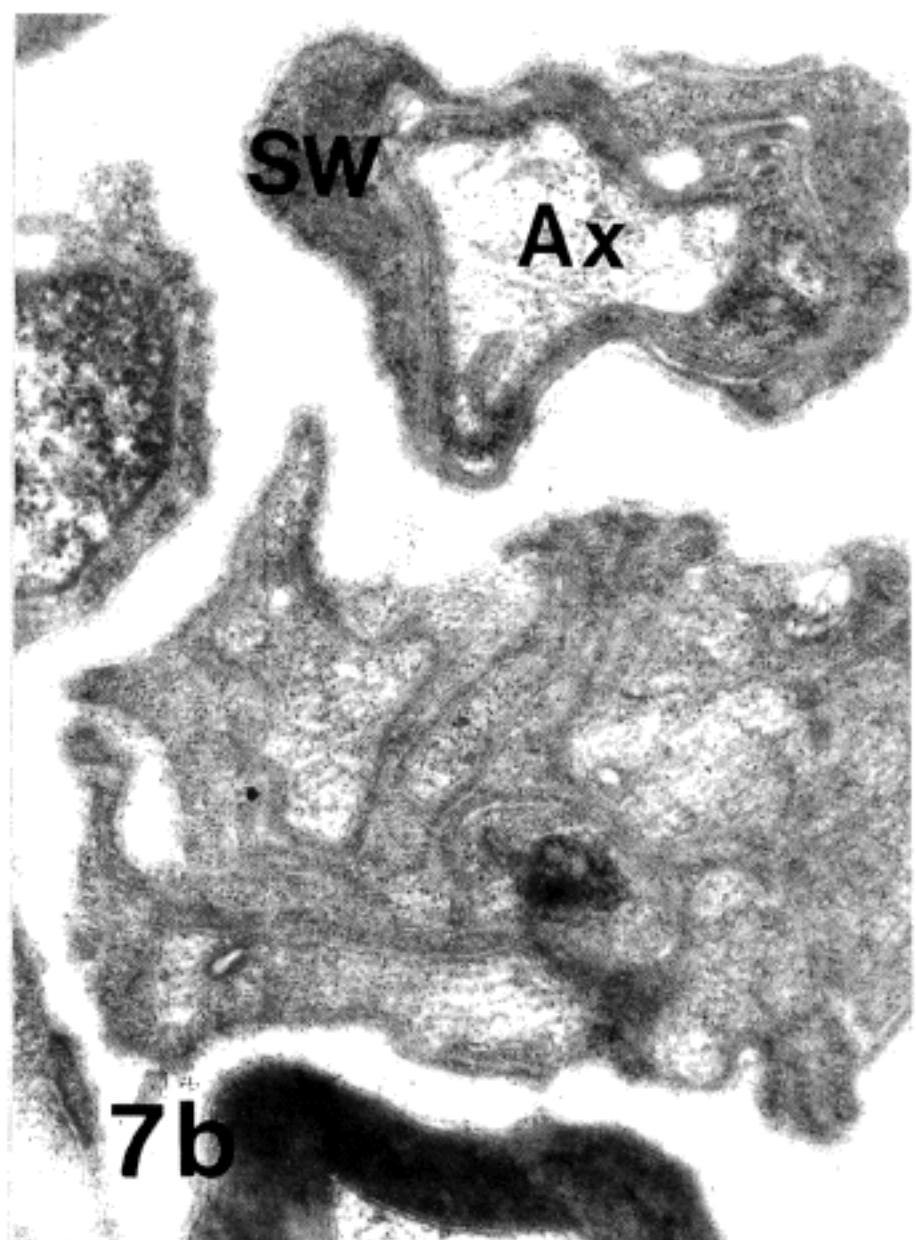
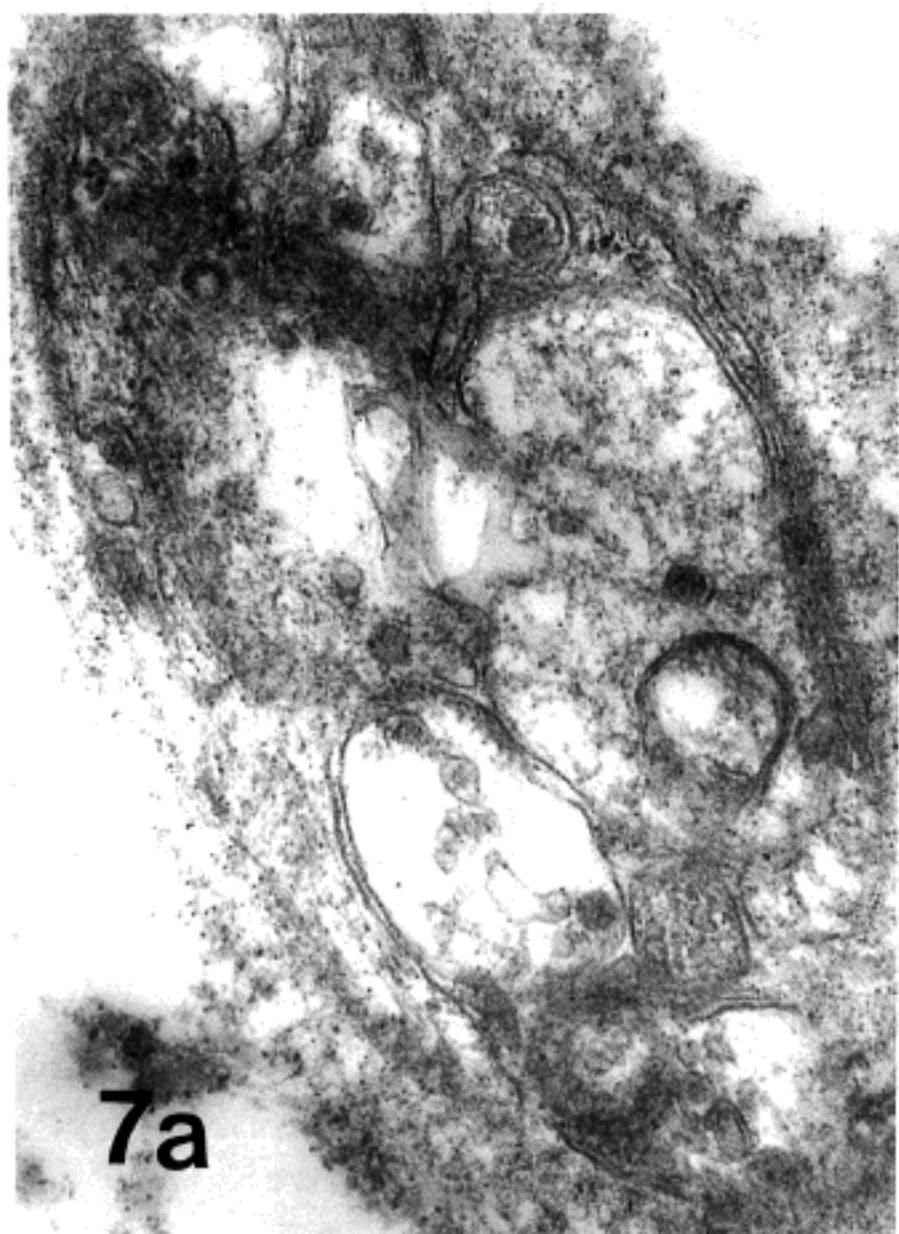
Legends for Figures

- Fig. 1.** CGRP and substance P immunoreactivity in the dorsal horn of 13th thoracic segment of the rat. a, CGRP immunoreactivity. b, Substance P immunoreactivity. CGRP and substance P immunoreactive fibers appeared as a dense plexus most heavily formed in the laminae I and outer portion of II(Ilo) in the dorsal horn. $\times 40$
- Fig. 2.** Changes of the CGRP immunoreactivity in the dorsal horn according to the course of time after injection with capsaicin to adult rat. $\times 40$. a, 24 hr. group after capsaicin injection. CGRP immunoreactive fibers were observed in the laminae I and outer portion of II(Ilo). CGRP-immunoreactivity decreased slightly compared to the control group. b, 48 hr. group after capsaicin injection. CGRP-immunoreactivity decreased more than that of the 24 hr. group. c, 1 week group after capsaicin injection. The average area of the CGRP immunoreactive dorsal horn decreased most. d, 1 month group after capsaicin injection. The CGRP immunoreactive area increased slightly in this group.
- Fig. 3.** Changes of the substance P immunoreactivity in the dorsal horn after injection with capsaicin to adult rat. $\times 40$. a, 24 hr. group after capsaicin injection. b, 48 hr. group after capsaicin injection. c, 1 week group after capsaicin injection. d, 1 month group after capsaicin injection. Substance P immunoreactive fibers were observed in the laminae I and outer portion of II(Ilo). The changing patterns of the immunoreactivity were similar to that of CGRP.
- Fig. 4.** Number of the CGRP immunoreactive cells in the dorsal root ganglia of 13th thoracic segment after injection of capsaicin to adult rats. $\times 200$. a, 24 hr. group after capsaicin injection. b, 48 hr. group after capsaicin injection. c, 1 week group after capsaicin injection. d, 1 month group after capsaicin injection. Number of the CGRP immunoreactive cells also decreased gradually. Arrows(→) were CGRP-immunoreactive cells.
- Fig. 5.** Number of the substance P immunoreactive cells in the dorsal root ganglia of 13th thoracic segment after injection of capsaicin to adult rats. $\times 200$. Arrows(→) were substance P-immunoreactive cells.
- Fig. 6.** Electron micrographs of experimental group in 24 hrs. after capsaicin injection to adult rats. a, In the ureter, peripheral axon swelling was severe and large, giant axons(Ax) were observed. $\times 42,000$. b, In the spinal ganglion cell, a lot of dense bodies(db) appeared in the cell body. $\times 19,000$. c, In the duodenum, large axons that contain secretory vesicles were selectively swelled. N; nucleus, Ax; axon. $\times 24,000$. d, In the saphenous nerve, they showed normal appearance. Ax; axon, My; myeline. $\times 11,000$.
- Fig. 7.** Electron micrographs of experimental group in one week after capsaicin injection to adult rats. a, In the ureter, peripheral axons swelled and cell organells destruction were severe. $\times 42,000$. b, In the dorsal root, the morphology of the axons were very irregular. SW; Schwann cell, Ax; axons. $\times 24,000$. c, In the duodenum, almost all of the axons showed swelling and cell organells destruction were very severe. M; mitochondria, Sv; synaptic vesicle. $\times 24,000$. d, In the saphenous nerve, the swelling of unmyelinated axon and destruction of mitochondria could be observed. $\times 19,000$.









—Abstract—

Experimental Study on the Mechanism of Analgesic Effect of Capsaicin

Jong-Eun Lee, Bong-Ok Kim*, Won-Taek Lee,
Ho Yoon, Kyung-Ah Park

Department of Anatomy, Yonsei University College of Medicine, Seoul 120-752, Korea

Department of Rehabilitation, ChoongNam National University College of Medicine, Taejon 305-764, Korea*

Capsaicin, the pungent analgesic substance of the red pepper is known to be a neurotoxic substance, interrupting the pain conducting pathway. To investigate the effects on the adult animals, histochemical, immunohistochemical and electronmicroscopical observation have been done after capsaicin treatment. Capsaicin 50mg/kg was injected subcutaneously to the adult rats and after 24 hours, 48 hours, 1 week and 1 month later, central nervous system, peripheral nervous system were investigated.

The results obtained are as follows;

1. The immunoreactivity against substance P(SP) and calcitonin gene-related peptide(CGRP) in the dorsal horn of spinal cord decreased by capsaicin treatment in adult rats and the effect was maximum after 1 week. It began to recover from 1 month after capsaicin treatment.
2. In the spinal ganglia, the number of CGRP and SP containing neurons decreased and these phenomena were maximum in 1 week and began to recover from 1 month after capsaicin treatment.
3. In electronmicroscopical examination, the most sensitive part to capsaicin was ureter and it showed severe morphological changes after 24 hours. Dorsal root ganglia cells also showed changes after 24 hours. The other parts showed prominent changes after 1 week and they showed recovery from 1 month after capsaicin treatment.

With the above results, the decrease of the B neurons which transmit pain in spinal ganglia and of the neurotransmitter, substance P and CGRP in the dorsal horn and spinal ganglia and destruction of the peripheral axons could be explain the mechanism of the analgesic effects of the capsaicin.

Key words : Capsaicin, Adult rat, Substance P, CGRP, Dorsal horn, Dorsal root ganglion, Peripheral axons