

Clonidine이 고양이 척수후각세포의 Activity에 미치는 효과

한양대학교 의과대학 생리학교실
*영남대학교 의과대학 신경외과학교실

지용철* · 김진혁 · 고상돈 · 신흥기 · 김기순

(1988년 3월 15일 접수)

= Abstracts =

Effect of Clonidine on the Dorsal Horn Cell Activities in the Cat

Yong Chul Chi*, Jin Hyuk Kim, Sang Don Koh
Hong Kee Shin and Kee Soon Kim

Department of Physiology, College of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea

**Department of Neurosurgery, Medical College, Yeung Nam University, Taegu, Korea*

Effect of clonidine on the dorsal horn cell responses to mechanical stimulations were studied in 3 spinalized cats and 10 cats with intact spinal cord. The type of dorsal horn cells was determined according to their response patterns to four graded mechanical stimulations (brush, pressure, pinch and squeeze) applied to the respective receptive fields. In the present study the results obtained only from the wide dynamic range (WDR) cells were included.

The responses of the WDR cells to noxious mechanical stimuli were selectively suppressed following intravenous administration of clonidine into the experimental animals. The clonidine-induced changes in responses of the WDR cells to mechanical stimulation were not affected by naloxone or propranolol whereas effect of clonidine on WDR cell responses was almost completely abolished after intravenous administration of yohimbine. Also in the spinalized cats results parallel to those observed in cats with intact spinal cord were obtained.

The results of present study strongly implies that analgesic action of clonidine can be mediated through excitation of α_2 -adrenoceptor even at the spinal cord level without supraspinal mechanism.

Key Words: Clonidine, α_2 -antagonist, WDR cell activity, Spinal animal, Analgesia.

서 론

중추신경내에서의 일부 체성감각정보의 전달과정에는 serotonin(5-HT) 및 catecholamine 등의 monoaminergic substance가 관여한다는 사실이 알려져 있다. 뇌간의 여러부위에서 기원하는 descending inhibitory control system은 receptive field에 가해진 여러가지 유해자극 특히, 자극역치가 높은 A δ 및 C 신경섬유의 자극에 의하여 유발된 nociceptive

neuron의 반응을 선택적으로 억제 (Fields et al., 1971; Lewis & Gebhart, 1977; Guilbaud et al., 1980) 하며, 이러한 억제반응은 serotonin 차단제에 의하여 유의하게 경감 (Yeziarski et al., 1982; Gerhart et al., 1984) 된다고 알려져 왔는데 이러한 사실은 descending inhibitory control system에 관여하는 매개물질이 serotonin임을 시사한다.

그러나 descending inhibitory control system에는 serotonin 뿐만 아니라 catecholamine 동작성 물질도 관여한다는 연구보고도 적지 아니한데 catechola-

mine 동작성물질은 descending inhibitory control system을 통해 작용함은 물론 척수수준에서 nociceptive neuron에 직접 작용할 수도 있다고 한다. 주로 뇌간의 Locus coeruleus(LC) 및 subcoeruleus(SC)에서 기원된 noradrenergic neuron은 척수후각, 특히 많은 수의 nociceptive neuron이 존재한다고 알려진 substantia gelatinosa를 비롯한 표면층에 다수 분포(Nygren & Olson, 1977; Westlund et al., 1984) 한다고 하며, 또한 LC 및 SC의 흥분은 온열 및 기계적 자극과 A δ 및 C 신경섬유의 자극에 의해 유발된 nociceptive neuron의 반응을 선택적으로 억제한다고 밝혀져 있다. 일찌기 nucleus raphe magnus(NRM) 및 인접한 망상체를 전기적으로 자극하면 진통작용이 유발될 뿐만 아니라 척수내 5-HT 및 noradrenaline의 방출량이 증가되며 이러한 반응들은 각각 serotonin 차단제 및 α -adrenergic receptor 차단제에 의하여 소실(Hammond & Yaksh, 1984) 된다고 보고된 바 있는데 이는 descending inhibitory control에 monoaminergic substance가 매개물질로 작용함을 실증하는 실험적 근거라고 할 수 있다.

한편 norepinephrine을 iontophoresis 법(Fleetwood-Walker et al., 1985)을 이용하거나 직접 척수 표면에 작용(intrathecal)시키면 (Reddy & Yaksh, 1980) tail flick latency가 연장되고 nociceptive neuron의 작용이 선택적으로 억제되며 phentolamine과 yohimbine의 투여로 유발된 진통작용은 소실되는 반면에 운동섬유의 흥분성은 증가(Chan et al., 1986) 된다고 하는데 이러한 연구결과는 α_2 - α_2 -adrenergic receptor agonist인 clonidine 같은 물질이 척수수준에서도 작용할 수 있음을 시사한다.

Clonidine은 morphine보다는 수십배 강력한 진통효과를 가지고 있다고 알려져 있으나(Bentley et al., 1977) 연수의 혈압조절중추에 작용하여 교감신경의 작용을 억제하므로써 혈압강하 및 심박수감소 반응(Pettinger, 1980)을 유발한다. 그러나 clonidine을 morphine과 함께 투여하면 clonidine에 의한 감압반응이 경감될 뿐만 아니라 보다 낮은 용량에서도 강력한 진통작용을 유발한다고 보고된바 있다.

일반적으로 formalin test, hot plate test 및 abdominal constriction test 등을 통각의 지표로 삼은 실험에서 clonidine을 피하 혹은 복강내로 투여하면 진통

효과는 투여용량에 비례한다(Schmidt et al., 1974; Bentley et al., 1977)고 한다. 최근 권등(1987)은 척수동물의 정맥내로 clonidine을 투여하여 본 바 통각의 지표인 굴근반사의 느린 성분 즉 A δ 및 C 신경섬유의 자극에 의하여 유발된 반사만이 선택적으로 억제되었으며 clonidine에 의하여 억제된 굴근반사는 yohimbine의 투여에 의하여 정상으로 회복됨을 확인할 수 있었다고 하였다.

한편 Yasuoka 및 Yaksh 등(1983)은 clonidine을 정맥내로 투여하면 tail flick latency가 변동하지 않으나 뇌실(Schmidt et al., 1974; Bentley et al., 1977) 및 척수내(intrathecal)로 투여한 경우에는 보다 강력한 진통작용이 유발됨을 관찰할 수 있었다고 한다. 또한 비지용성(nonlipophilic) α_2 -agonist인 naphazolin 및 4-hydroxy-clonidine을 복강내로 투여하면 별 영향이 없으나 뇌실내로 투여할 경우에는 강력한 진통효과를 인정할 수 있으며 이러한 진통작용은 prazocin의 영향을 받지 않으나 yohimbine의 투여에 의하여 소실된다는 연구보고(Schmidt et al., 1974; Marwaha, 1984)가 있는데 이는 clonidine의 진통작용은 중추신경내에 존재하는 α_2 -adrenergic receptor를 통해서 매개됨을 의미한다.

Clonidine이 중추신경계의 어느부위에 존재하는 α_2 -adrenoreceptor를 통하여 작용하는지에 관하여서는 아직 명확히 밝혀진 바는 없다. 일찌기 Ossipov와 Gebhart(1983)는 쥐에서 tail flick test, hot plate test 및 tail-shock vocalization test를 통각의 지표로 삼은 실험에서 PAG내로 투여된 morphine에 의해서는 진통 작용이 유발되지만 clonidine에 의해서는 통각역치의 변동을 관찰할 수 없었다고 주장한 바 있다. 그러나 최근 Wang 등(1985)은 periventricular gray(PVG), periaqueductal gray(PAG) 및 dorsal raphe nuclei내로 투여된 clonidine에 의해 유발된 지속적인 진통효과가 naloxone 및 yohimbine에 의하여 소멸됨을 확인하고 이는 clonidine이 serotonergic pathway에 위치한 presynaptic α -adrenoreceptor에 작용하여 나타난 결과라고 기술하였다. 한편 Sagen과 Proudfit 등(1985)은 microinjection 법을 이용하여 NRM내로 clonidine을 투여하면 tail flick latency가 연장되나 phenylephrine을 투여하면 오히려 단축되는데 이러한 tail flick latency의 변동은 각각

yohimbine 및 prazosin의 투여에 의하여 정상으로 회복된다고 하였다. 이러한 결과는 clonidine이 NRM에 분포하는 presynaptic α_2 -adrenoreceptor와 결합하여 매개물질의 분비를 억제하므로써 NRM neuron에 대한 억제작용을 감소시켜 상대적으로 raphe-spinal neuron을 자극한 것과 같은 효과를 초래함과 아울러 raphe-spinal neuron의 분지가 LC를 자극하여 bulbospinal noradrenergic neuron의 흥분성을 항진함으로써 척수후각내에 존재하는 nociceptive neuron을 억제하여 통각역치를 상승시키기 때문이라고 믿어진다. 이를 뒷받침해주는 실험적 증거로서 NRM은 A5 catecholamine nuclei로부터 noradrenergic input을 받으며 이 noradrenergic input은 NRM에 대해서 억제적으로 작용하여 통각역치를 낮추어 hyperalgesia를 유발하는 반면에 A5 catecholamine nuclei를 파괴하면 지속적이고 강력한 진통작용을 유발한다는 실험 결과(Sagen & Proudfit, 1986)를 들 수 있다.

이상의 연구결과들을 종합하여 볼때 clonidine의 진통효과에 대해서는 이론이 있을 수 없으나 대부분의 실험에서 tail flick test, hot plate test 및 tail shock vocalization test등 유해자극에 대한 행동으로, 나타난 반응만을 관찰하였을 뿐 clonidine이 통증 유발과정에 관여하는 척수후각세포의 기능에 미치는 영향을 관찰한 연구는 없다. 본 실험은 기계적 자극에 의해 활성화된 wide dynamic range (WDR) cell의 반응에 미치는 clonidine의 영향을 구명하고자 시행되었다.

실험재료 및 방법

성숙한 고양이 (2.5~3.5 kg) 13마리를 암수의 구별 없이 사용하였으며 ether로 전마취한 실험동물에 60 mg/kg의 α -chloralose (Sigma chemical co.)를 정맥 주사하여 마취하였다. 실험동물을 인공호흡기에 연결한 후 pancuronium bromide (0.5 mg/kg)를 정맥 주사하여 근육마비를 유발하였으며 전 실험기간을 통하여 말초신경자극에 의하여 근수축반응이 일어날 때마다 소량 (0.5 mg/kg)의 pancuronium bromide를 추가로 정맥주사하였다. 체액의 손실을 방지하기 위하여 glucose와 mannitol로 구성된 수액을 요골정맥

내로 계속 주입하였으며 한편 경동맥에 연결된 pressure transducer를 통하여 polygraph 상에 기록된 평균 동맥압이 80 mmHg이하로 낮아진 경우에는 실험을 중단하였다.

배측 정중선을 따라 피부를 절개한 후 제 4요추 및 제 1천추 사이의 척수를 노출시킨 정상척수군(10마리)과 제 12 및 제 13 흉추 사이의 흉수를 추가로 노출시켜 약 10초간씩 2회에 걸쳐 핀셋으로 강하게 압박하여 척수를 파괴시킨 척수동물군(3마리)으로 나누어 실험하였으며 척수동물을 만든 후 최소 5시간 이상 경과한 후에 척수후각세포의 activity를 기록하였다. 또한 말초신경자극에 의하여 척수후각세포를 확인하기 위하여 경골신경 및 총비골신경을 분리하였다.

이상의 수술이 완료된 후 실험동물을 뇌고정장치에 고정하였으며 노출된 신경조직의 건조를 방지하기 위하여서는 액체 파라핀으로 pool을 만든 후 온수순환식 heating coil을 이용하여 pool의 온도를 일정 (37°C)하게 유지하였으며 동물의 체온은 thermo-probe가 연결된 전기담요를 이용하여 일정하게 유지하였다.

척수후각세포의 activity를 기록하기 위하여서는 경골신경 혹은 총비골신경의 자극에 의한 입력을 그대로 받는 부위를 cord dorsum potential에 의해 확인한 다음 수술현미경 하에서 이 부위의 경막 및 연막을 제거한 후 carbon filament microelectrode (1.0~3.0 Mohm)를 서서히 삽입하면서 동시에 경골신경 혹은 총비골신경을 전기적으로 자극하여 이때에 활성화되는 척수후각세포의 single activity를 확인하였다. 척수후각세포의 single activity가 확인되면 이 세포의 receptive field와 cell type을 결정한 후 receptive field의 자극에 의해 유발된 척수후각세포의 activity 변동을 window discriminator를 통과시킨 후 computer에 입력시켜 post stimulus time histogram을 기록하여 비교, 분석하였다. 본 실험에서는 척수후각세포중 비교적 다양한 자극에 반응하는 wide dynamic range (WDR) cell만을 선택하여 clonidine의 효과를 관찰하였다. Receptive field에 가해진 기계적인 자극은 brush, pressure, pinch 및 squeeze의 4가지이었으며 brush는 미술용 붓 (15호)으로 털을 가볍게 문진 정도를 말하며 pressure와 pinch는 각

각 대소 동맥 clamp로 피부를 쥘 정도의 자극이며 squeeze는 핀셋으로 receptive field의 피부를 강하게 압박한 상태를 말한다. 각 자극은 10초동안 지속되었으며 pinch 및 squeeze는 사람에서도 심한 통증을 유발하는 유해자극이었음을 확인하였다.

이상과 같은 기계자극에 의하여 유발된 척추후각세포의 activity 변동에 미치는 clonidine의 영향을 구명하고자, 체중 kg당 50 μ g의 clonidine (Sigma chemical co.)을 정맥내로 투여하기 전과 후에 receptive field의 자극에 대한 척추후각세포의 반응을 기록하여 서로 비교하였다. 아울러 clonidine에 의하여 척

추후각세포의 activity 변동이 유발되는 기전을 구명하고자 α_2 -adrenoreceptor만 선택적으로 차단하는 yohimbine (150 μ g/kg, Sigma chemical co.), β -adrenoreceptor 차단제인 propranolol (1 mg/kg), 및 μ -opioid receptor 차단제인 naloxone (0.1 mg/kg, Sigma chemical co.)의 투여가 clonidine에 의하여 억제된 척추후각세포의 activity 변동에 미치는 효과를 비교, 분석하였다.

한편 모든 실험이 끝난후 기록전극의 위치를 확인하기 위하여 30 μ A의 직류전류를 30초간 통과시켜 만든 electrical lesion을 포함하는 척수를 절단하여 10

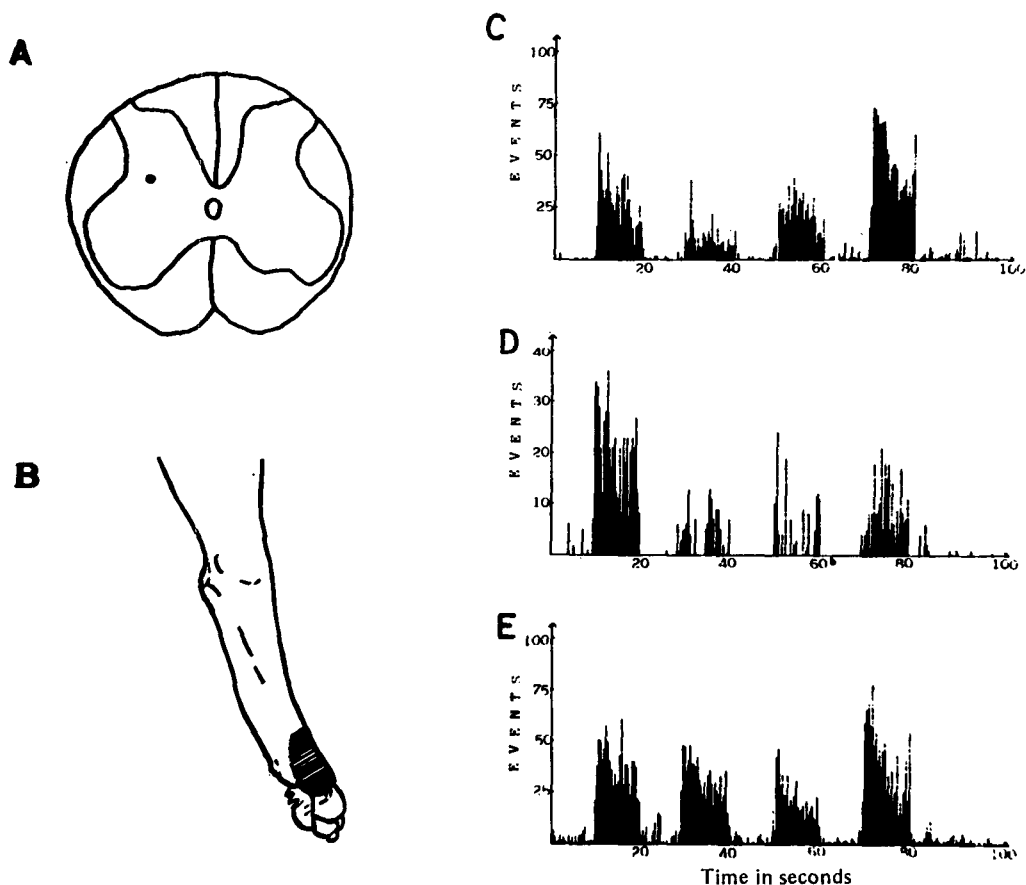


Fig. 1. Suppression of the responses of WDR cell to mechanical stimulation by intravenously administered clonidine (50 μ g/kg) in the cat. Duration of each mechanical stimulation was 10 sec. A & B : Schematic drawings showing the laminar location of recording electrode in the spinal cord and receptive field on the hind limb. C : Control responses of WDR cell to mechanical stimulation such as brush, pressure, pinch, and squeeze. D : Clonidine-induced inhibition of responses of WDR cell to mechanical stimulation. E : Effect of yohimbine (150 μ g/kg) on the clonidine-induced inhibition of responses of WDR cell to mechanical stimulation.

% formalin에 최소한 1주일 이상 고정한 후 조직표본을 만들었다.

실 험 결 과

척수후각세포의 activity에 미치는 clonidine의 영향을 구명하고자 clonidine (50 μ g/kg)을 정맥주사하기 전과 후에 각종 자극에 대한 척수후각세포의 반응을 관찰하였는 바 그림 1에서 보는 바와 같다. 그림 1의 A는 자극에 대한 반응을 기록한 척수후각세포의 위치를 표시한 것으로서 대개 Lamina V 내지 VI에 해당하며 B는 receptive field를 표시한 것이다. 본 실험에서 선택한 척수후각세포는 brush 및

pressure 같은 약한 자극에 의해서도 활성화될 뿐만 아니라 자극의 강도를 증가시키에 따라 반응이 점차 커지는 wide dynamic range (WDR) cell임을 알 수 있었다(그림 C 참조). Clonidine 투여 30분 후에 각 receptive field에 가해진 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 반응은 clonidine 투여 전 대조치에 비교해서 현저하게 억제되었으며(그림 1D) brush 및 pressure 같은 자극보다는 pinch 및 squeeze 같은 유해자극에 대한 반응이 더욱 현저하게 억제되는 경향을 보였다(그림 D).

Clonidine에 의하여 척수후각세포의 억제효과가 일어나는 기전을 밝히고자 clonidine을 투여한 후 WDR cell의 activity가 억제된 상태에서(그림 1D)

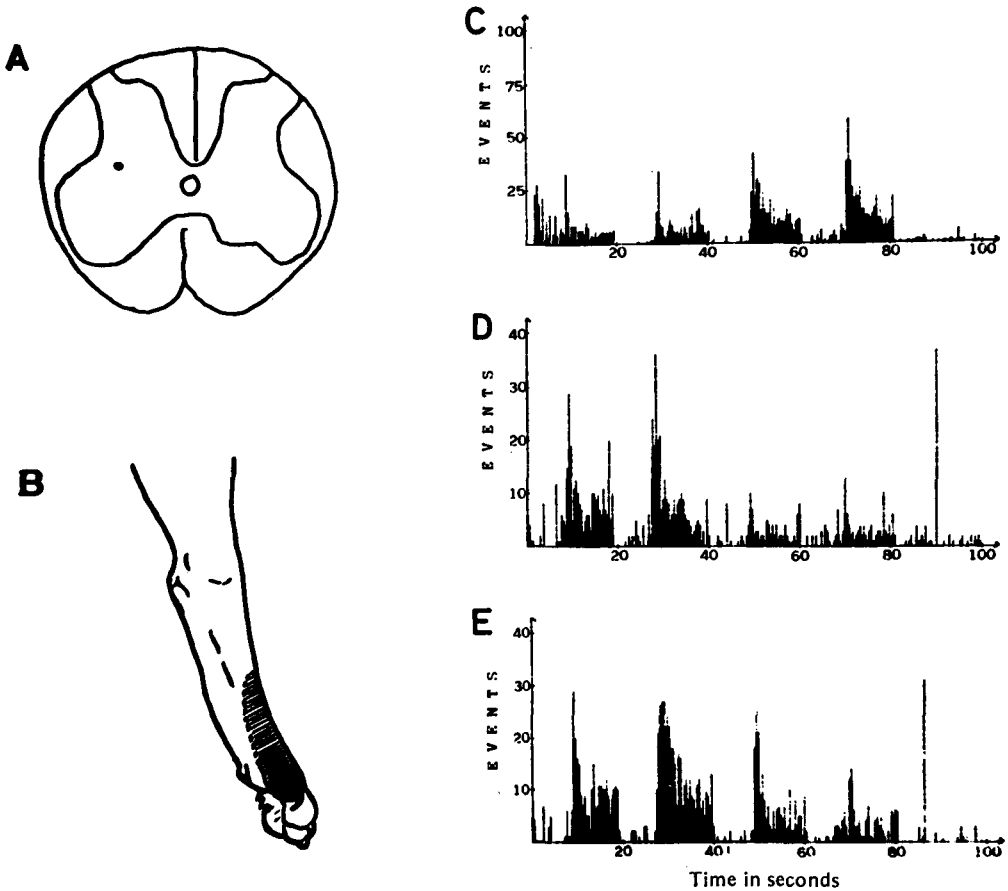


Fig. 2. Effect of propranolol (1 mg/kg) on the changes in the dorsal horn cell activities following intravenous administration of clonidine (50 μ g/kg) in the cat. A, B, C, & D : Same as illustrated in Fig. 1. E : Effect of propranolol on the clonidine-induced inhibition of responses of WDR cell to mechanical stimulation.

yohimbine을 투여하였는 바 그 결과는 그림 1E에서 보는 바와 같다. Clonidine에 의하여 현저하게 억제된 척수후각세포의 반응은 yohimbine의 투여에 의하여 거의 정상수준까지 회복되었으며 이러한 실험 결과는 clonidine의 척수후각세포 기능억제작용이 α_2 -adrenoreceptor를 통하여 매개됨을 의미한다.

한편 propranolol이 clonidine에 의한 척수후각세포의 억제작용에 미치는 영향을 알고자 clonidine의 투여에 의하여 척수후각세포의 반응이 현저하게 억제되었음을(그림 2D) 확인한 후 propranolol을 투여하였는 바 그 결과는 그림 2E에서 보는 바와 같다. Clonidine의 투여에 의하여 특히 유해자극에 대한 척수후각세포의 반응이 현저하게 억제되었으나(그림

2D) propranolol은 clonidine에 의하여 억제된 척수후각세포의 반응에 하등의 영향을 미치지 아니하였는데 이는 clonidine의 억제작용이 β -adrenoreceptor와는 무관함을 암시해준다.

억제된 척수후각세포의 반응은 naloxone의 투여에 의하여 하등의 영향을 받지 아니하는데(그림 3E) 이러한 본 실험의 결과는 적어도 opioid receptor중 μ -receptor는 clonidine의 억제작용과는 무관함을 시사한다.

이상은 척수가 완전하게 보존된 정상 척수군동물에서 얻은 결과이므로 clonidine의 억제효과가 spinal 및 supraspinal mechanism에 의하여 일어났으리라 사료된다.

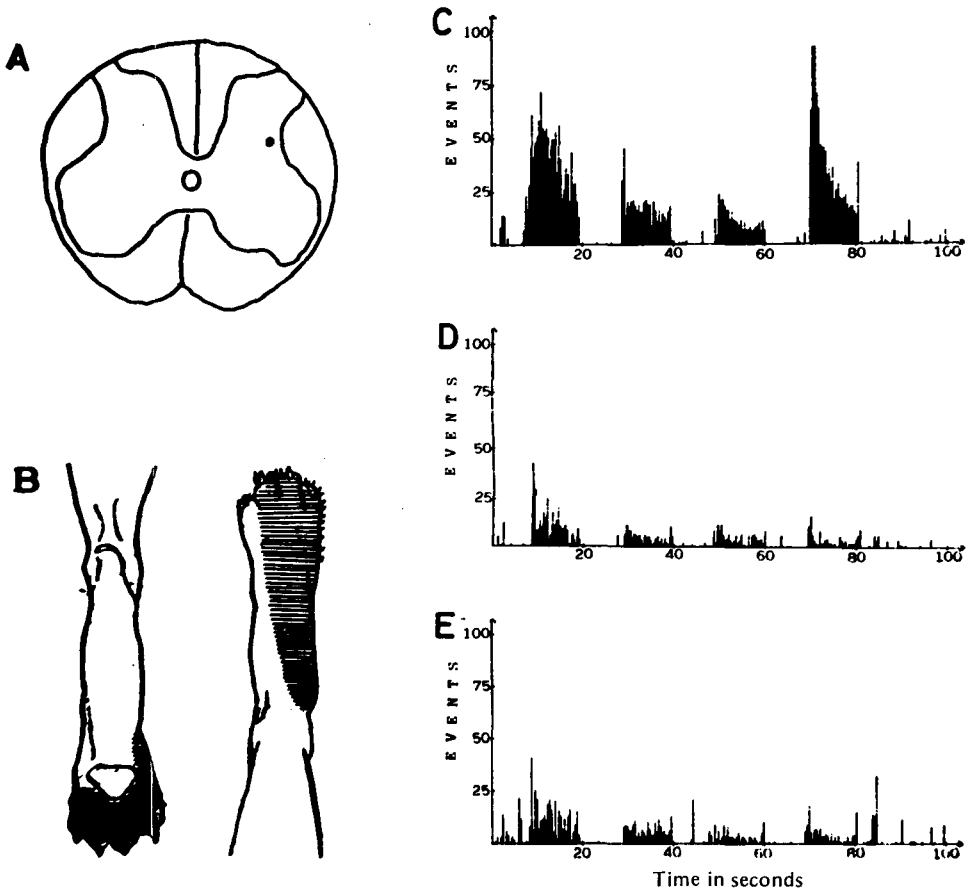


Fig. 3. Effect of naloxone (0.1 mg/kg) on the changes in the dorsal horn cell activities following intravenous administration of clonidine (50 ug/kg) in the cat. A, B, C, & D : Same as illustrated in Fig. 1. E : Effect of naloxone on the clonidine-induced inhibition of responses of WDR cell to mechanical stimulation.

한편 clonidine의 작용이 순수한 spinal mechanism에 의해서도 일어나는지를 구명하고자 제 12 및 13 흉수 사이에서 척수를 파괴한, 즉 척수손상동물에 clonidine을 투여한 후 척수후각세포 반응의 변동을 관찰하였는 바 그림 4에서 보는 바와 같은 결과를 얻을 수 있었다. Clonidine의 투여에 의하여 척수후각세포의 반응중 특히 pinch 및 squeeze와 같은 유해 자극에 대한 반응이 더욱 현저하게 억제되었으며(그림 4D) 정상척수군의 반응(그림 1, 2, 및 3의 D)과 비교해 보면 척수동물군에서의 clonidine의 억제효과가 다소 약한 듯한 경향을 볼 수 있었다.

척수손상동물군에서 clonidine이 척수후각세포의 반응을 억제하는 기전을 밝히고자 clonidine을 투여한 후 척수후각세포의 반응이 억제되었을때(그림

4D) yohimbine을 투여하여 본 바 척수후각세포의 반응이 완전히 회복되었다. 이와 같은 실험 결과는 clonidine의 억제작용은 supraspinal mechanism과는 무관하게 척수수준에서도 α_2 -adrenoreceptor를 통하여 일어날 수 있음을 의미한다.

고찰

Catecholamine 동작성 물질이 체성감각정보의 전달과정에 관여하는 기전은 ① 뇌간에서 기원된 bulbospinal noradrenergic pathway의 활성화 ② 척수수준에서 유해자극에 반응하는 nociceptive neuron에 대한 직접작용 ③ 그외에도 일차구심성 섬유 의 흥분성 변화등의 세가지 방향에서 생각해 볼 수

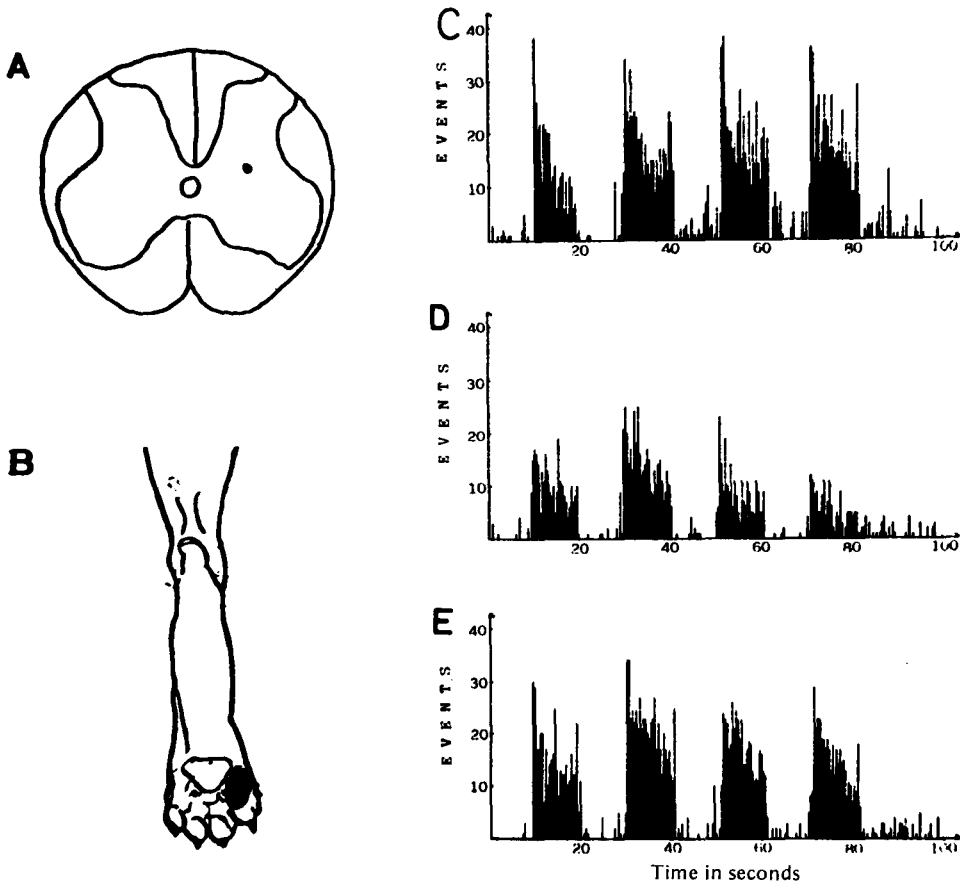


Fig. 4. Effect of clonidine (50 ug/kg) on the WDR cell responses to mechanical stimulation in the spinal cat. A, B, C, & D : Same as illustrated in Fig. 1. E : Effect of yohimbine (150 ug/kg) on the clonidine-induced inhibition of responses of WDR cell to mechanical stimulation.

있다.

척수후각에 분포하는 noradrenergic fiber는 주로 locus coeruleus (LC) 및 subcoeruleus (SC)에서 출발하며 이들은 척수후각중에서도 특히 substantia gelatinosa (SG)에 다수 분포(Nygren & Olson, 1977; Westlund et al., 1984)한다. SG에는 자극역치가 매우 높은 A δ 및 C 신경섬유의 입력을 받는 nociceptive neuron이 다수 존재하며(Bennett et al., 1979; Cervero et al., 1979) 이들 neuron중 일부는 시상과 연결되는 spinothalamic tract를 형성하는 등 통증유발 과정에서 매우 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. LC 및 SC에 의하여 진통 효과가 유발된다는 것은 대체로 유해자극에 대한, 척수후각세포의 반응변동과 tail flick response 등이 선택적으로 억제된다는 사실(Margalit & Segal, 1979; Mokha et al., 1985; Jones & Gebhart, 1986)로 부터 확인할 수가 있다. Mokha 등(1985)은 고양이의 LC를 전기적으로 자극한 바 피부에 가한 pinch 및 열자극이나 A δ 및 C 신경섬유의 자극에 대한 척수후각세포의 반응중 특히 late component의 억제효과가 현저하게 나타나나 low threshold mechanoreceptive neuron의 반응도 억제됨을 볼 수 있었다고 한다. LC에 의한 통증억제작용은 척수내로 투여한 yohimbine 및 phentolamine에 의하여 소실되는데 이는 척수내에 존재하는 α_2 -adrenoreceptor를 통하여 매개된다(Jones & Gebhart, 1986)고 믿어진다. 한편 6-hydroxytryptamine(6-OHDA) 투여로 척수내 catecholamine을 고갈시킨 동물에서도 LC의 전기자극에 의한 척수후각세포의 억제효과가 잔존하는 바 이는 LC 자극으로 유발된 통증억제작용은 bulbospinal noradrenergic pathway 이외의 다른 descending pathway를 통해서도 매개될 가능성이 있음(Margalit & Segal, 1979; Hodge et al., 1983)을 시사한다. Coderre 등(1986)은 좌골신경 및 복재신경(saphenous N.)의 절단으로 신경류가 형성된 쥐에서 LC를 파괴하면 자절현상(autotomy)이 증가됨을 관찰하고 자절현상과 LC에 의한 tonic descending inhibiton 간에는 상관성이 있다고 주장하였다. 또한 6-OHDA를 전처치한 동물에서 척수에 직접 morphine을 투여하면 진통작용이 나타나지만 nucleus reticularis paragigantocellularis 내로 투여하

면 진통작용이 현저하게 감소된다는 보고(Pang & Vasko, 1986)와 periaqueductal gray(PAG)에 주입된 morphine에 의해서 유발된 진통작용이 척수내로 주입된 phentolamine에 의해 소실된다는 연구결과(Yaksh, 1979)는 morphine에 의한 진통작용에 noradrenergic system이 관여함을 시사하는 실험결과라고 믿어진다.

Noradrenaline성 물질은 NRM에 작용하여 통각역치를 변동할 수도 있다고 알려져 있다. Sagen(1983, 1985, 1986) 및 공동연구자들에 따르면 NRM은 A5 catecholamine nuclei로부터 noradrenergic input을 받으며 A5 catecholamine nuclei의 파괴에 의해서 tail flick latency가 현저하게 연장되지만 NRM내로 투여된 phentolamine에 의해서는 유의하게 단축된다고 하며 이렇게 단축된 tail flick latency는 척수내 serotonin 및 norepinephrine을 고갈시키면서 정상으로 회복된다고 한다. 이들 연구자들은 norepinephrine성 물질이 NRM에 작용하는 기전으로서 phentolamine 및 phenylephrine과 같은 α_1 -agonist는 postsynaptic α_1 -receptor에 작용하여 NRM의 작용을 억제하여 통각역치를 저하시키는 반면에 clonidine 같은 α_2 -agonist는 presynaptic α_2 -receptor에 작용하여 noradrenergic transmitter의 방출량을 억제하므로써 raphe-spinal serotonergic neuron의 흥분성을 증가시키고 동시에 LC에 분포하는 serotonin 및 norepinephrine을 고갈시키면 정상adrenergic neuron을 흥분시키므로써 통각역치를 상승시킨다고 설명하였다. 최근 O'Neill 및 Haigler(1985)와 Wang 등(1985)도 뇌교 망상체와 PAG 및 PVG를 포함한 뇌실 주위 조직내로 투여된 clonidine에 의해서 강력한 진통작용이 유발되며 이러한 진통작용은 yohimbine의 투여에 의하여 소실됨을 관찰하고 이는 clonidine이 serotonergic neuron에 연결된 presynaptic α_2 -receptor에 작용하여 norepinephrine의 방출량을 감소시키므로써 나타난 결과라고 풀이하였다.

Fleetwood-Walker 등(1985)은 iontophoresis 법을 이용하여 고양이의 요수내로 norepinephrine을 투여한 실험에서 열자극 및 pinche에 대한 후각세포의 반응이 현저하게 억제됨을 관찰하였으며, Reddy 및 Yaksh 등(1980)도 척수내로 투여된 norepinephrine

은 tail flick latency를 연장하나, 진통작용을 유발하는 용량범위내에서는 운동계에는 영향을 미치지 않는다고 보고한 바 있다. 한편 α_2 -agonist인 clonidine을 척수내로 투여할 경우에도 투여용량에 비례해서 tail flick latency가 연장된다는 연구결과(Yasuoka & Yaksh, 1983)도 알려져 있다.

최근 North 및 Yoshimura 등(1984)의 in vitro 실험에 따르면 norepinephrine은 SG neuron의 K-conductance를 증가시켜 과분극을 유발하므로써 nociceptive input을 억제하며 이러한 norepinephrine의 작용은 phentolamine과 yohimbine에 의하여 억제된다고 한다. 또한 척수후각내에 삽입한 자극전극을 통한 역행성 자극법(antidromic stimulation)을 이용하여 단일 비복신경(single sural N.) C섬유의 흥분성 변동에 미치는 norepinephrine의 영향을 구명한 실험에서 C섬유의 자극역치가 상승된다는 사실이 밝혀졌다.

Clonidine을 포함한 catecholamine 성 물질은 중추성 작용 뿐만 아니라 말초에도 작용하는 것이 확실시되지만, 통증유발과정에 관여한다고 알려진 WDR cell의 기능에 미치는 clonidine의 영향에 대해서 확실하게 밝혀진바가 없는 실정이다. 본 실험에서 관찰한 척수후각세포는 대개 lamina V 내지 VI에 위치하고 있었으며 자극강도가 증가됨에 따라 반응이 점차 커지는 전형적인 WDR cell이었다. Receptive field에 가해진 자극에 의하여 유발된 WDR cell의 반응은 clonidine의 투여에 의하여 현저하게 억제되었으며, 특히 pinch 및 squeeze 등과 같은 유해자극에 대한 반응이 현저하게 억제되는 경향을 보였다. 이는 clonidine의 투여에 의하여 자극역치가 높은 A δ 및 C섬유자극에 의해서 유발된 굴근반사의 느린 성분이 선택적으로 억제되며, A β 섬유의 자극에 의한 빠른 성분은 영향을 받지 않는다는 실험결과(Kwon et al., 1987)와 일치한다. 유해자극에 의해 유발된 반응이 clonidine에 의하여 선택적으로 억제되는 가전에 대해서는 본 실험의 결과만으로는 설명할 수 없으나 최근 Calvillo와 Ghignone 등(1986)이 역행성 자극법을 이용하여 일차구심성섬유의 흥분성에 미치는 clonidine의 작용을 구명한 실험에서 A섬유는 전연 영향을 받지 않으나 C-섬유에서는 primary afferent depolarization에 의한 presynaptic inhibition이 유발

되어 α_2 -receptor를 통해서 진통작용이 나타날 것이라고 주장한 바 있다. 정상척수군에서는 척수가 완전히 보존된 상태이므로 supraspinal mechanism이 관여되었을 것이 확실하다. 그러나, clonidine이 척수상군에서도 정상척수군과 비교하면 정도의 차이는 있으나 WDR cell의 반응을 상당히 강하게 억제한다는 본 실험의 결과는 clonidine의 척수와 말초신경에 대한 직접작용도 중추성 작용에 못지 않게 중요하다라는 사실을 실증한다.

한편 clonidine에 의한 WDR cell의 억제작용에 대한 기전을 구명하고자 clonidine을 투여한 후 WDR cell의 반응이 억제된 상태 하에서 β -adrenoreceptor 차단제인 propranolol과 α_2 -adrenoreceptor 차단제인 yohimbine을 투여하였는 바 propranolol에 의해서는 전연 영향을 받지 않았으나 yohimbine의 투여에 의해서는 억제된 WDR cell의 반응이 거의 정상수준으로 회복되었다. 이와 같은 본 실험의 결과는 clonidine에 의하여 억제된 유해자극에 대한 후각세포의 반응이 yohimbine의 투여에 의하여 차단되며 이는 α_2 -adrenoreceptor를 통해서 매개될 것이라고 한 다른 연구자들의 연구결과(Marwaha, 1984; Wang et al., 1985)와 일치된다.

Clonidine에 의하여 유발된 진통작용에 morphine 성 물질이 관여하는지에 대해서는 명확히 밝혀져 있지 않으므로(Chan, 1984; Wang et al., 1985) 이를 확인하고자 clonidine을 투여한 후 WDR cell의 반응이 억제되었음을 확인한 후 naloxone을 투여하였는 바 억제된 WDR cell의 반응에는 아무런 영향을 없었다. 이러한 결과는 opioid receptor중 μ -receptor와는 무관하게 clonidine의 진통작용이 나타난다고 한 Rovati 등(1986)의 결과와 일치한다. 최근 보고된 kappa antagonist인 MR2266의 투여에 의하여 clonidine의 진통작용이 현저하게 억제된다고 한 실험결과와 clonidine의 투여에 의한 dynorphine의 방출량이 증가됨(Xie et al., 1986)을 확인한 연구 보고는 kappa receptor가 clonidine에 의하여 유발된 진통작용에 관여함을 시사해준다. 한편, clonidine에 의하여 β -endorphine이 방출된다(Ramirez-Gonzalez et al., 1983)는 연구보고를 감안할 때 clonidine의 진통작용에서 δ -receptor의 작용을 확인하고 아울러 σ -receptor 작용까지도 확인해볼 필요성이 있다고 사

료된다.

통증유발과정에서 중요한 작용을 하는 것으로 알려진 WDR cell의 반응이 척수손상군의 동물에서도 clonidine에 의하여 현저하게 억제되며 이러한 WDR cell의 반응은 yohimbine의 투여에 의하여 회복된다. 본 실험의 결과로 볼 때 clonidine은 supraspinal mechanism과는 무관하게 척수내에 존재하는 α_2 -adrenoreceptor와 말초신경에 작용하여서도 진통 작용을 유발할 수 있다고 사료된다.

결 론

통증 유발과정에 관여한다고 알려져 있는 척수후각세포중 특히 wide dynamic range (WDR) cell의 반응에 미치는 clonidine의 영향과 그 작용기전을 구명하고자 정상척수군과 척수손상군의 동물에서 clonidine 투여 전, 후에 수중기계적 자극에 대한 WDR cell의 반응을 관찰하였으며 또한 clonidine의 척수후각세포 억제 효과에 미치는 yohimbine, propranolol 및 naloxone 등의 영향을 조사하였는 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 기계적 자극중 특히 pinch 및 squeeze와 같은 유해자극에 대한 WDR cell의 반응이 clonidine의 투여에 의하여 현저하게 억제되었다.

2) Clonidine에 의하여 억제된 WDR cell의 반응은 yohimbine에 의해서는 거의 완전하게 회복되었으나 propranolol에 의해서는 전혀 영향을 받지 아니하였다. 이는 clonidine의 억제작용은 α_2 -adrenoreceptor를 통하여 매개됨을 의미한다.

3) Clonidine의 WDR cell 억제작용은 naloxone 투여에 의해서는 전혀 영향을 받지 아니하였다.

4) 척수손상군의 동물에서도 clonidine은 정상척수군에 유사한 정도로 WDR cell 반응을 억제하였으며 이러한 억제작용은 yohimbine의 투여에 의하여 거의 정상수준으로 회복되었다.

이상의 결과는 clonidine에 의한 WDR cell 억제작용은 supraspinal mechanism과는 별도로 척수수준에서도 α_2 -adrenoreceptor를 통해서 매개될 수 있음을 시사해 준다.

REFERENCES

Bennett GJ, Hayashi H, Abdelmoumene M & Dubner R (1979). Physiological properties of stalked cells of the substantia gelatinosa intracellularly stained with horseradish peroxidase. *Brain Res* 164, 285-289

Bentley GA, Copeland IW & Starr J (1977). The actions of some alpha-adrenoreceptor agonists and antagonists in antinociceptive test in mice. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 4, 405-419

Calvillo O & Ghignone M (1986). Presynaptic effect of clonidine on unmyelinated afferent fibers in the spinal cord of the cat. *Neurosci Lett* 64, 335-339

Cervero F, Iggo A & Molony V (1979). Ascending projections of nociceptive-driven lamina I neurones in the cat. *Exp Brain Res* 35, 135-149

Chan JYH, Fung SJ, Chan SM & Barnes CO (1986). Facilitation of lumbar monosynaptic reflexes by locus coeruleus in the rat. *Brain Res* 369, 103-109

Chan SHH (1984). Differential effects of clonidine on pain, blood pressure and heart rate in the cat: Lack of interaction with naloxone. *Exp Neurol* 84, 338-346

Coderre TJ, Grimes RW & Melzack R (1986). Autotomy after nerve sections in the rat is influenced by tonic descending inhibition from locus coeruleus. *Neurosci Lett* 67, 82-86

Fields HL, Basbaum AI, Clanton CH & Anderson SD (1971). Nucleus raphe magnus inhibition of spinal cord dorsal horn neurons. *Brain Res* 126, 441-453

Fleetwood-Walker SM, Mitchell R, Hope PJ, Molony V & Iggo A (1985). An α_2 -receptor mediates the selective inhibition by noradrenaline of nociceptive responses of identified dorsal horn neurons. *Brain Res* 334, 243-254

Gerhart KD, Yeziarski RP, Wilcox TK & Willis WD (1984). Inhibition of primate spinothalamic tract neurons by stimulation in periaqueductal gray or adjacent midbrain reticular formation. *J Neurophysiol* 51, 450-466

Guilbaud G, Peschanski M, Gautron M & Binder D (1980). Responses of neurons of the nucleus raphe magnus to noxious stimuli. *Neurosci Lett* 17, 149-154

Hammond DL & Yaksh TL (1984). Antagonism of stimulation-produced antinociception by intrathecal

- administration of methysergide or phentolamine. *Brain Res* 298, 329-337
- Hodge CJ, Apkarian AV, Stevens RT, Vogelsang GD, Brown O & Franck JI (1983). Dorsolateral pontine inhibition of dorsal horn cell responses to cutaneous stimulation: Lack of dependence on catecholaminergic systems in cats. *J Neurophysiol* 50, 1220-1235
- Howe JR & Zieglansberger W (1987). Responses of rat dorsal horn neurons to natural stimulation and to iontophoretically applied norepinephrine. *J Comp Neurol* 225, 1-17
- Jeftinija S, Semba K & Randic M (1981). Norepinephrine reduces excitability of single cutaneous primary afferent C-fibers in the cat spinal cord. *Brain Res* 219, 456-463
- Jones SL & Gebhart GF (1986). Characterization of coeruleospinal inhibition of the nociceptive tail flick reflexes in the rat: Mediation by spinal α_2 -adrenoceptors. *Brain Res* 364, 315-330
- Kwon SO, Koh SD, Shin HK & Kim KS (1987). Clonidine-induced inhibition of the flexion reflex in the cat. *Kor J Physiol* 21, 67-77
- Lewis VA & Gebhart GF (1977). Evaluation of the periaqueductal central gray (PAG) as a morphine-specific locus of action and examination of morphine-induced and stimulation-produced analgesia at coincident PAG loci. *Brain Res* 124, 283-303
- Margalit D & Segal M (1979). A pharmacologic study of analgesia produced by stimulation of nucleus locus coeruleus. *Psychopharmacology* 62, 169-173
- Marwaha J (1984). Supersensitivity of analgesic responses to α_2 -adrenergic agonists in genetically hypertensive rats. *Brain Res* 304, 363-366
- Mokha SS, McMillan JA & Iggo A (1985). Descending control of spinal nociceptive transmission. Actions produced on spinal multireceptive neurons from the nuclei locus coeruleus (LC) and raphe magnus (NRM). *Exp Brain Res* 58, 213-226
- North RA & Yoshimura M (1984). The actions of noradrenaline on neurons of the rat substantia gelatinosa in vitro. *J Physiol* 349, 43-55
- Nygren LG & Olson L (1977). A new major projection from locus coeruleus: the main source of noradrenergic nerve terminals in the ventral and dorsal columns of the spinal cord. *Brain Res* 132, 85-93
- O'Neill TP & Haigler HJ (1985). Effect of clonidine on neuronal firing evoked by a noxious stimulus. *Brain Res* 327, 97-103
- Ossipov MH & Gebhart GF (1983). Absence of antinociceptive effect of alpha-2 agonists microinjected in the periaqueductal gray of the rat. *Brain Res* 289, 349-354
- Pang IH & Vasko MR (1986). Effect of depletion of spinal cord norepinephrine on morphine-induced antinociception. *Brain Res* 371, 171-176
- Pettinger WA (1980). Pharmacology of clonidine. *J Cardiovas Pharmacol* 2(Suppl I), S21-S28
- Ramirez-Gonzalez MD, Tchskarov LT, Garcia RM & Kunos G (1983). β -endorphin acting on the brain stem is involved in the antihypertensive action of clonidine and α -methyldopa in rats. *Cir Res* 53, 150-157
- Reddy SVR & Yaksh TL (1980). Spinal noradrenergic terminal system mediates antinociception. *Brain Res* 189, 391-401
- Rovati LC, Bianchi IM, Sacerdote P & Panerai AE (1986). Clonidine induced-analgesia involves an opioid mechanism. *Soc Neurosci Abst* 12(2), 1017
- Sagen J & Proudfit HK (1985). Evidence for pain modulation by pre- and postsynaptic noradrenergic receptors in the medulla oblongata. *Brain Res* 331, 285-293
- Sagen J & Proudfit HK (1986). Alterations in nociception following lesions of the A5 catecholamine nucleus. *Brain Res* 370, 93-101
- Sagen J, Winker MA & Proudfit HK (1983). Hypoalgesia induced by the local injection of phentolamine in the nucleus raphe magnus: Blockade by depletion of spinal cord monoamines. *Pain* 16, 253-263
- Schmidt H, Le Dourec JC & Petillot N (1974). Antinociceptive effects of some α -sympathetic agents. *Neuropharmacology* 13, 289-294
- Wang YC, Su CF & Lin MT (1985). The site and the mode of analgesic actions exerted by clonidine in monkeys. *Exp Neurol* 90, 479-498
- Westlund KN, Bowker RM, Ziegler MG & Coulter JD (1984). Origins and terminations of descending noradrenergic projections to the spinal cord of monkey. *Brain Res* 292, 1-16
- Willis WD, Leonard RB & Kenshalo DR (1978). Spinoth-

- alamic tract neurons in the substantia gelatinosa. *Science* 202, 986-988
- Xie CW, Tang J & Han JS (1986). Clonidine stimulated the release of dynorphine in the spinal cord of the rat: a possible mechanism for its depressor effects. *Neurosci Lett* 65, 224-228
- Yasuoka S & Yaksh TL (1983). Effects on nociceptive threshold and blood pressure of intrathecally administered morphine and α -adrenergic agonists. *Neuropharmacology* 22, 309-315
- Yaksh TL (1979). Direct evidence that spinal serotonin and noradrenaline terminals mediate the spinal antinociceptive effects of morphine in the periaqueductal gray. *Brain Res* 160, 180-185
- Yeziarski RP, Wilcox TK & Willis WD (1982). The effects of serotonin antagonists on the inhibition of primate spinothalamic tract cells produced by stimulation in nucleus raphe magnus or periaqueductal gray. *J Pharmacol Exp Ther* 220, 266-277