

# 통각유발물질에 의한 척수후각세포의 반응에 미치는 Clonidine의 영향

한양대학교 의과대학 생리학교실 및 \*연세대학교 원주의과대학 내과학교실

이광훈\* · 김진혁 · 신흥기 · 김기순

(1988년 9월 20일 접수)

— Abstracts —

### Effect of Clonidine on the Changes in Dorsal Horn Cell Activity Induced by Chemical Algogenics

Kwang Hoon Lee\*, Jin Hyuk Kim, Hong Kee Shin and Kee Soon Kim

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

*\*Department of Internal Medicine, Wonju College of Medicine,*

*Yonsei University, Wonju, Korea*

The present study was undertaken to investigate the effect of clonidine on the response of the dorsal horn cells to intra-arterially administered bradykinin (BK: 40  $\mu$ g) and K<sup>+</sup> (4 mg) in spinal cats and cats with intact spinal cord. The change in the activities of low threshold (LT), high threshold (HT) and wide dynamic range (WDR) cells induced by BK and K<sup>+</sup> were determined before and after treatment of animals with clonidine. Also studied was mechanism of inhibitory action of clonidine on the responses of dorsal horn cells to the chemical algogenics.

Number of WDR cell responded to intra-arterially administered BK and K<sup>+</sup> was greater in spinal animals than in cats with intact spinal cord. Following administration of BK or K<sup>+</sup> no change was observed in the activity of LT cell whereas activity of HT cell increased invariably. The increased response of HT cell to BK and K<sup>+</sup> was markedly suppressed by clonidine. On the other hand, such inhibitory actions of clonidine were almost completely blocked by yohimbine. The majority of WDR cells were activated by K<sup>+</sup> while response of WDR cells to BK was diverse (excitatory, inhibitory or mixed).

These results indicate that clonidine inhibits responses of the dorsal horn cells not only to thermal or mechanical stimulations but also to chemical algogenics, and that the inhibitory action of clonidine is generally mediated through excitation of  $\alpha_2$ -adrenoreceptors.

**Key Words:** Dorsal horn cells, Bradykinin, K<sup>+</sup>, Spinal animals, Yohimbine, Clonidine.

## 서 론

통증의 유발에 관여하는 구심성 섬유가 자극되는 기전에 관해서는 유해자극에 의하여 통증유발에 관여하는 구심성 신경섬유가 직접 자극된다는 주장과, 유해자극에 의하여 유리되는 수종의 매개 물질

에 의하여 자극된다는 두가지 주장(Besson & Chaouch, 1987)이 있으나 어느 한 주장만으로는 이들 구심성 신경섬유가 자극되는 기전을 완전히 설명하는 어렵다.

특히 후자의 경우에 통증유발에 관여하는 매개물질로서는 bradykinin (BK), histamine, serotonin (5-HT), prostaglandin (PG), K<sup>+</sup> 및 H<sup>+</sup>등이 지목되

어 왔으나 실제로 실험동물에 유해자극을 가하거나 통증을 동반하는 염증을 유발하면 이들 물질이 유리된다는 사실(Chapman et al., 1963; Besson & Chaouch, 1987)이 확인된 바 있다. 이들 매개 물질 중 가장 강력한 통증반응을 유발한다고 알려진 BK를 사람(Coffman, 1966)이나 동물(Collier et al., 1964)의 동맥내로 주입하면 통증반응이 행동으로 표현된다고 한다. 최근 Szolcsanyi(1987)는 BK를 가토 동맥내로 투여한 후 피부구심성 신경의 single activity를 기록하여 본 바 polymodal C nociceptor만 자극되고 C mechanosensitive fiber와 A 신경섬유는 전연 영향을 받지 아니하였다고 한다. 또한 Kumazawa 및 Mizumura등(1980)은 개의 음낭에 분포하는 구심성 섬유중 90% 이상의 polymodal unit가 KCl 및 BK에 의하여 자극되며 특히 BK에 의한 반응은 indomethacin의 투여에 의하여 억제된다고 기술한 바 있다. 이상의 연구결과는 BK등에 의하여 통증이 유발된다는 사실을 뒷받침 해 주는 전기생리학적 실험근거라 하겠다. 그러나 BK는 nociceptor만을 선택적으로 자극하는 것이 아니라 통증유발과는 무관하다고 알려진 A $\beta$  섬유까지도 자극한다는 연구보고(Fjallbraut & Iggo, 1961; Beck & Handwerker, 1974)도 있다.

한편 Mense (1981, 1982)는 비복동맥내로 BK를 투여하여 이때 자극되는 구심성 섬유의 종류를 구명하였는 바 주로 group III 및 group IV 섬유가 BK에 의하여 자극되었으며 5-HT와 PGE<sub>2</sub>의 투여에 의하여 항진되는 BK의 반응은 acetylsalicylic acid에 의하여 억제됨을 관찰할 수 있었다고 한다. 또한 이러한 경우 많은 수의 group IV muscle afferent fiber가 nociceptor로 작용하며 BK, 5-HT 및 PGE<sub>2</sub> 등의 물질이 병리적 상태하에서 유리된다는 사실을 감안할 때 이들 물질이 손상조직이나 염증이 유발된 조직에서 통증 유발에 관여함이 확실시 된다고 주장하였다.

또한 BK는 피부와 근육에서 기원된 구심성 섬유뿐만 아니라 심장에서 기원된 구심성 섬유(Baker et al., 1980)와 이의 입력을 받는 척수후각세포(Blair et al., 1982)도 자극하며, 관상동맥의 혈류 차단시 BK의 유리량이 증가(Kimura et al., 1973)됨은 잘 알려진 사실이다.

한편 여러가지 유해자극에 의해서 발생한 체성각각정보는 구심성 섬유를 통하여 척수후각 내로 전달된 후 통각을 유발하는 과정에서 periaqueductal gray (PAG) 및 nucleus raphe magnus (NRM) 등의 뇌간 부위에서 기원하는 raphe-spinal serotonergic system의 영향을 받으며(Yezierski et al., 1982; Gerhart et al., 1984) 동시에 bulbo-spinal noradrenergic system의 영향도 받는 것으로 알려져 있다. Bulbo-spinal noradrenergic neuron은 locus coeruleus (LC)와 subcoeruleus (SC)에서 출발하여 척수의 anterior funiculus와 lateral funiculus를 통과하여 다수의 nociceptive neuron이 존재하는 척수의 laminae I 및 II에 주로 분포한다(Nygren & Olson, 1977; Westlund et al., 1984)고 한다. LC 및 SC의 전기적 자극은 열자극 및 기계적 자극과 A $\delta$  및 C 신경섬유의 자극에 의하여 유발된 nociceptive neuron의 반응 중 특히 느린 성분을 현저하게 억제(Hodge et al., 1981; Mokha et al., 1985)할 뿐만 아니라 tail flick test와 hot plate test 시행시에 행동으로 나타나는 통각반응도 억제(Margalit & Segal, 1979; Jones et al., 1984)한다. 이러한 진통작용은 prazosin에 의해서는 전연 영향을 받지 아니하나 척수내로 직접 투여된 yohimbine 및 phentolamine에 의하여 소실되는 바 LC 및 SC의 자극에 의하여 유발된 진통효과는 척수내에 존재하는  $\alpha_2$ -adrenoceptor를 통하여 매개 (Jones & Gebhart, 1986) 됨을 의미한다.

또한 noradrenaline (NE)성 물질은 bulbo-spinal system를 통하지 않고 척수와 말초신경에 대한 직접 작용도 있는 것으로 알려져 있다. 척수내로 직접 투여된 NE는 유해한 정도의 열자극 및 기계적 자극에 의하여 유발된 척수후각세포의 반응(Fleetwood-Walker et al., 1985)과 tail flick reflex(Howe et al., 1983)등을 선택적으로 억제한다. 척수수준에서 NE의 투여에 의하여 유발된 진통효과는  $\alpha_2$ -antagonist인 yohimbine의 투여에 의하여 소실되는데 이는 척수내에 존재하는  $\alpha_2$ -adrenoceptor를 통하여 진통작용이 매개된다는 사실을 실증하는 것이다. 척수수준에서 유발된 NE의 진통효과는 SG neuron의 K-conductance가 NE의 투여에 의하여 증가되므로써 과분극이 유발되어 말초로부터 전달된 nocicep-

tive input을 억제한다는 North 및 Yoshimura 등 (1984)의 실험결과에 의해서도 부분적인 설명이 가능하다. 또한 C 섬유의 역치가 NE의 투여용량에 비례하여 증가된다는 연구보고(Jeftinija et al., 1981)는 유해자극에 의하여 발생된 입력이 척수내로 전달되는 과정에서 억제되어 진통작용이 유발됨을 시사한다.

한편 catecholamine 동작성 물질에 속하는 clonidine은  $\alpha_2$ -agonist로서 혈압조절중추에 작용하여 교감신경의 흥분성을 억제하는 혈압강하제(Pettinger 1980)로 알려졌으나 혈압 강하작용 외에도 강력한 진통작용도 있다는 사실이 확인된 바 있다. 열자극에 대한 통각반응을 지표로 이용한 tail flick test와 hot plate test로 부터 clonidine은 morphine보다도 월등히 강력한 진통작용을 유발하며 피하, 복강 혹은 정맥내로 투여시보다 cisterna, 뇌실 및 척수내에 직접 투여할 경우에 보다 강력한 진통작용이 유발된다는 실험결과(Schmidt et al., 1974; Bentley et al., 1977; Yasuoka & Yaksh, 1983)는 clonidine에 의한 진통작용은 말초신경보다는 중추신경계를 통하여 매개됨을 강력히 시사한다.

Clonidine이 작용하는 중추신경계의 부위로서는 periventricular gray (PVG), PAG 및 dorsal raphe nuclei (Wang et al., 1985)와 NRM (Sagen et al., 1983; Sagen & Proudfit, 1985) 등이 지목되고 있으나 명확하지는 않다.

최근 척수동물에서 말초신경의 전기적 자극에 의하여 유발된 굴근반사의 빠른 성분은 clonidine의 영향을 받지 아니하나 A $\delta$  및 C 섬유의 자극에 의하여 유발된 느린 성분이 현저하게 억제된다는 보고(Kwon et al., 1987)와 정상 및 척수동물에서 receptive field에 가해진 기계적 자극에 의하여 유발된 wide dynamic range(WDR) cell의 반응 중 특히 pinch와 squeeze 같은 강한 자극에 의한 반응이 clonidine에 의해서 보다 강력하게 억제된다는 연구결과(Chi et al., 1988)는 clonidine은 유해자극에 의한 반응을 선택적으로 억제하며, 뇌간을 제외한 척수와 말초신경에 대한 작용만으로도 충분히 진통작용을 유발할 수 있음을 시사한다.

이상의 연구결과들을 종합하여 볼 때, 열자극, 전기적 자극 및 기계적 자극에 의하여 유발된 통증반

응에 대한 clonidine의 진통효과는 충분히 검토되었으나 염증이 유발되거나 손상된 조직에서 방출되어 통각에 관여한다고 알려진 수종 화학물질에 의하여 유발된 통각반응에 미치는 clonidine의 영향을 관찰한 연구는 없다. 본 실험은 bradykinin 및 K<sup>+</sup>과 같은 통각 유발물질의 투여에 의하여 유발된 척수후각세포의 반응에 미치는 clonidine의 영향을 구명하고자 시행되었다.

## 실험재료 및 방법

체중 2.5~3.5 kg의 고양이 15마리를 ether로 전마취시킨 후 요골정맥에 연결된 cannula를 통하여 60 mg/kg의  $\alpha$ -chloralose (Sigma Co.)를 정맥주사하여 마취하였다. 호흡은 실험동물의 기도에 연결된 인공호흡기로 유지하였으며 pancuronium bromide (0.5 mg/kg)를 정맥주사하여 근육을 마비시켰다. 한편 수술로 인하여 발생하는 체액의 손실을 방지하기 위하여 glucose와 mannitol로 구성된 수액을 계속 정맥내로 주입하였으며 경동맥에 연결된 pressure transducer를 통하여 polygraph상에 기록된 평균동맥압이 80 mmHg 이하로 저하된 경우에는 실험을 중단하였다.

배측 정중선을 따라 피부를 절개한 후 제4요추 및 제1천추 사이의 척수를 노출시킨 정상척수군(12마리)과 제12 및 제13흉추 사이의 척수를 추가로 노출시킨 후 약 10초간씩 2회에 걸쳐 핀셋으로 강하게 압박하여 척수를 파괴시킨 척수동물군(3마리)으로 나누어 실험하였으며 척수동물군에서는 척수를 파괴한 후 최소한 4~5시간 이상 경과한 후 척수후각세포의 activity를 기록하였다. 또한 말초신경의 전기자극에 의해 척수후각세포를 확인하기 위하여 하지의 경골신경 및 총비골신경을 분리하였으며 척수후각세포의 activity를 기록하는 반대편 대퇴 동맥내에 cannula를 삽입한 후 이를 통하여 BK 및 K<sup>+</sup>를 동맥내로 투여하였다. 이상의 수술이 완료된 후 실험동물을 뇌고정장치에 고정하여 모든 실험을 진행하였으며, 노출된 신경조직의 건조를 방지하기 위하여서는 온수순환에 의해 온도가 일정(37°C)하게 유지되는 액체 파라핀볼을 만들었다. 한편 동물의 체온은 직장내에 삽입된 thermoprobe를 통하여

feedback으로 조절되는 전기담요를 이용하여 일정하게 유지하였다.

척수후각세포의 single activity를 확인하기 위하여서는 경골신경 혹은 총비골신경의 자극시 최대의 입력을 받는 부위를 척수표면에 부착된 ball electrode로 기록한 cord dorsum potential에 의하여 확인한다. 다음 이 부위의 경막 및 연막을 제거한 후 carbon filament microelectrode (1.0~2.0 Mohm)를 척수내로 서서히 삽입하면서 동시에 경골신경 혹은 총비골신경을 전기적으로 자극하여 이때에 활성화되는 척수후각세포의 single activity를 확인하였다. 일단 척수후각세포의 single activity가 확인되면 먼저 receptive field를 결정한 후 receptive field에 가해진 기계적 자극 (brush, pressure, pinch 및 squeeze)에 대한 반응을 기준으로 하여 cell type을 결정하였다. 정상척수군에서는 40 µg의 BK (Sigma Co.)와 4 mg의 K<sup>+</sup>를 동맥내로 투여한 후 이때 유발된 WDR cell의 activity 변동만을 기록하였으며, 척수동물군에서는 30 µg/kg의 clonidine을 정맥내로 투여하기 전과 후에 BK 및 K<sup>+</sup>에 대한 반응을 low threshold (LT) 및 high threshold (HT) cell에서도 기록하였다. 또한 BK 및 K<sup>+</sup>의 투여에 의하여 유발된 척수후각세포의 반응에 미치는 clonidine의 작용기전을 구명하고자 clonidine을 투여하고 다시 yohimbine (60 µg/kg, Sigma Co.)을 투여한 후 척수후각세포의 activity를 기록하였다.

이상의 모든 실험에서 유발된 척수후각세포의 activity는 preamplifier (WPI DAM 5)를 이용하여

일차증폭한 후 window discriminator (FHC)를 이용하여 computer에 입력시켜 post stimulus time histogram으로 기록하였으며 기록된 척수후각세포의 위치는 척수 표면으로부터 전극이 들어간 깊이를 micromanipulator를 이용하여 결정하였다.

### 실 험 결 과

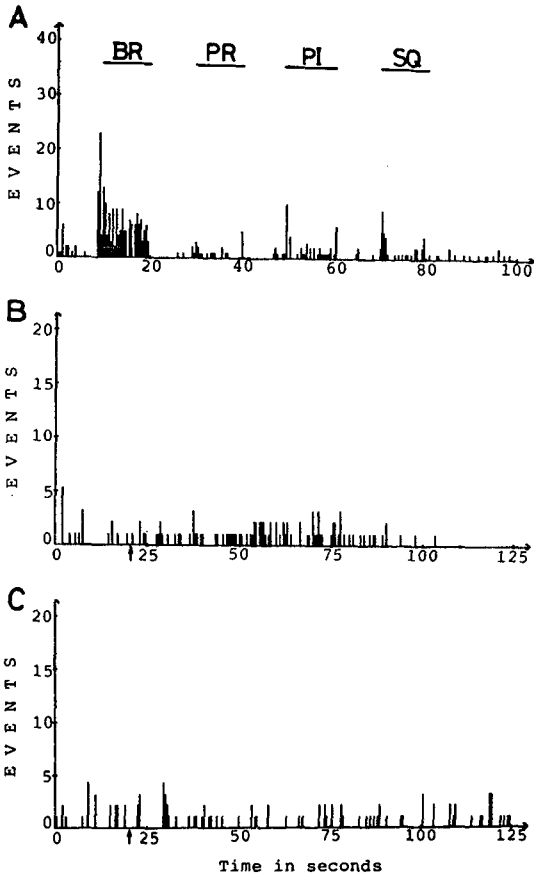
본 실험에서 척수의 표면과 삽입된 전극과의 거리를 기준으로 하여 볼 때 LT cell은 주로 척수 회백질의 lamina IV (1500~1750 µm)에, WDR cell은 lamina IV-VI (1650~3700 µm)에 위치하였으며 HT cell은 LT cell이나 WDR cell에 비교하여 심층부 (laminae V-VI: 2500~3750 µm)에 위치하고 있음을 알 수 있었다.

주로 PAG 및 NRM 등의 뇌간부위에서 기원하는 descending inhibitory control system이 척수후각세포의 반응에 대한 tonic effect가 있는지를 확인하고자 BK 및 K<sup>+</sup>과 같은 통각 유발 물질에 대한 WDR cell의 반응을 정상척수군과 제12 및 제13흉추 사이의 척수를 파괴한 척수동물군에서 비교한 결과는 표 1에서 보는 바와 같다. 정상척수군에서는 WDR cell의 약 50%가 BK의 영향을, 약 77.8%가 K<sup>+</sup>의 영향을 받았으나 척수동물군에서는 WDR cell의 94.6%가 BK의 영향을, 약 87.9%가 K<sup>+</sup>의 영향을 받았다. 정상척수군에 비하여 척수동물군에서 BK 및 K<sup>+</sup>에 대해 반응하는 척수후각세포의 비율이 현저하게 증가되는 현상을 관찰할 수 있었으며 이러한 현상은

**Table 1.** Response of the dorsal horn cells to the intra-arterially administered bradykinin (40 µg) and potassium ion (4 mg) in the cat

| Animal type                   | Cell type | Treatment      | Response pattern |            |                 |             | Number of total cell |
|-------------------------------|-----------|----------------|------------------|------------|-----------------|-------------|----------------------|
|                               |           |                | Excitation       | Inhibition | Excit. & Inhib. | No response |                      |
| Spinalized (T <sub>13</sub> ) | LT        | BK             | -                | -          | -               | 3(100%)     | 3                    |
|                               |           | K <sup>+</sup> | -                | -          | -               | 3(100%)     | 3                    |
| Spinalized (T <sub>13</sub> ) | HT        | BK             | 5(100%)          | -          | -               | -           | 5                    |
|                               |           | K <sup>+</sup> | 4(100%)          | -          | -               | -           | 4                    |
| Spinalized (T <sub>13</sub> ) | WDR       | BK             | 21(56.8%)        | 4(10.8%)   | 10(27.0%)       | 2(5.4%)     | 37                   |
|                               |           | K <sup>+</sup> | 25(75.8%)        | -          | 4(12.1%)        | 4(12.1%)    | 33                   |
| Intact Spinal Cord            | WDR       | BK             | 1(12.5%)         | 3(37.5%)   | -               | 4(50.0%)    | 8                    |
|                               |           | K <sup>+</sup> | 7(77.8%)         | -          | -               | 2(22.2%)    | 9                    |

LT: low threshold cell, HT: high threshold cell, WDR: wide dynamic range cell, BK: bradykinin



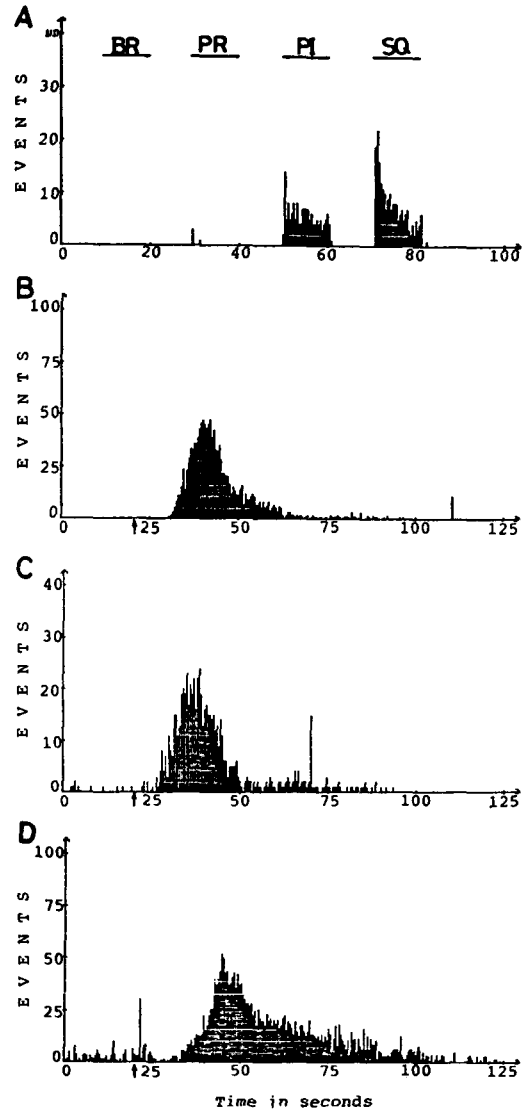
**Fig. 1.** Response of LT cell to intra-arterially administered bradykinin ( $40\mu\text{g}$ ) or potassium ion ( $4\text{ mg}$ ) in the spinal cat.

A: Cell type of dorsal horn cell which responds only to light mechanical stimulation such as brush. Each mechanical stimulation was applied for 10 sec.

B & C: Responses of LT cell to bradykinin and potassium ion, respectively. Arrows under the each figure indicate the time when bradykinin and potassium ion were administered.

특히 투여된 BK에 대한 척수후각세포의 반응에서 더욱 현저하였다.

BK 및  $\text{K}^+$ 의 투여에 의하여 LT cell은 전연 영향을 받지 아니하였으나(그림 1) 모든 HT cell의 반응은 예외없이 증가되었다. Clonidine이 BK 및  $\text{K}^+$ 의 투여에 의하여 유발된 HT cell의 activity 변동에 미치는 영향을 구명하고자 먼저 BK 및  $\text{K}^+$ 에 의하여



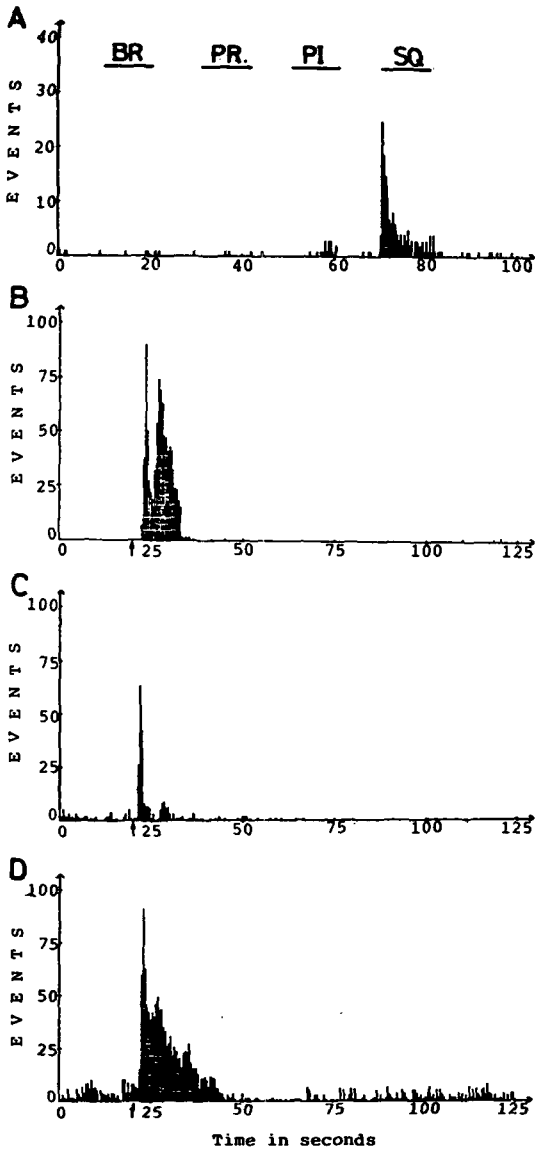
**Fig. 2.** Effect of clonidine ( $30\mu\text{g}/\text{kg}$ ) and yohimbine ( $60\mu\text{g}/\text{kg}$ ) on the bradykinin-induced changes in the activity of HT cell in the spinal cat.

A: HT cell, showing that it responds only to noxious mechanical stimulation such as pinch and squeeze.

B: Control response of HT cell to intra-arterially administered bradykinin.

C: Clonidine-induced inhibition of the response of HT cell to bradykinin.

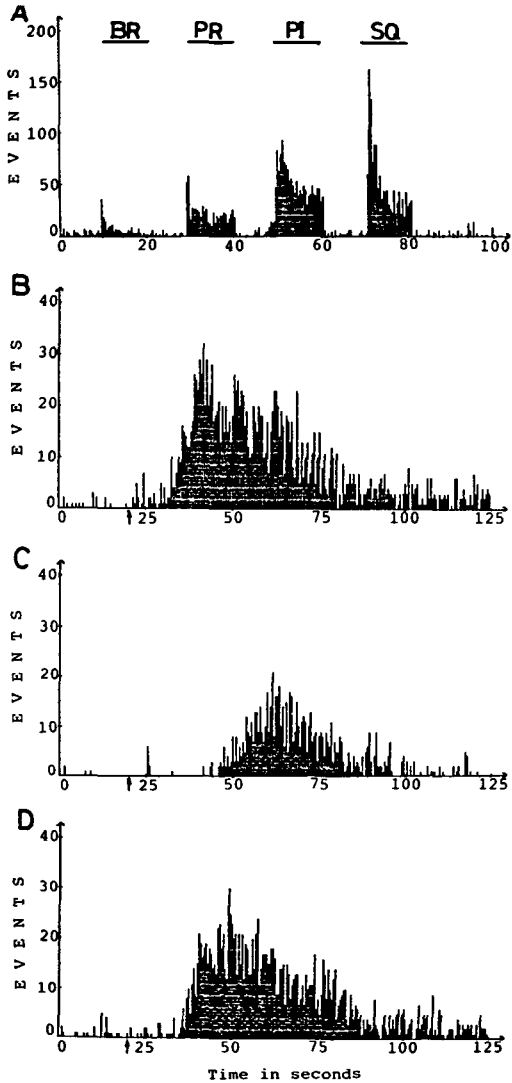
D: Recovery of clonidine-induced changes in the response of HT cell to bradykinin following yohimbine administration.



**Fig. 3.** Effect of clonidine ( $30\mu\text{g}/\text{kg}$ ) and yohimbine ( $60\mu\text{g}/\text{kg}$ ) on the  $\text{K}^+$ -induced changes in the activity of HT cell in the spinal cat.  
 A: Same as illustrated in Fig. 2A.  
 B: Control response of HT cell to intra-arterially administered  $\text{K}^+$ .  
 C: Clonidine-induced inhibition of the response of HT cell to  $\text{K}^+$ .  
 D: Recovery of clonidine-induced changes in the response of HT cell to  $\text{K}^+$  following administration of yohimbine.

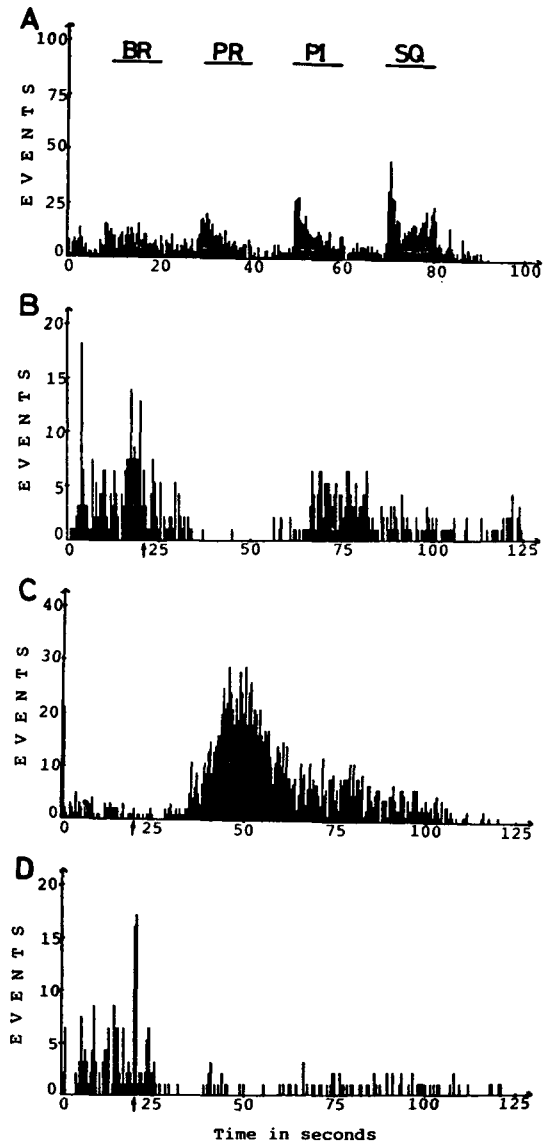
유발된 HT cell의 activity 변동을 기록하였는 바 그림 2 및 그림 3에서 보는 바와 같다. BK 및  $\text{K}^+$ 의 투여에 의하여 HT cell의 activity가 현저하게 증가되었으며(그림 2B 및 그림 3B) BK에 비교해서  $\text{K}^+$ 의 투여에 의한 activity 변동은 response latency와 반응 지속시간이 짧은 경향을 나타내었다. 증가된 HT cell의 activity는 clonidine의 투여에 의하여 현저하게 억제됨을 알 수 있었다(그림 2C 및 그림 3C). BK 및  $\text{K}^+$ 의 투여에 의한 HT cell의 activity 변동에 대한 clonidine의 억제작용기전을 구명하기 위하여 clonidine에 의하여 activity가 억제된 상태하에 있는 HT cell에 yohimbine을 투여하였던 바 clonidine의 효과가 유의하게 차단되어 거의 대조치의 반응으로 회복되었으며(그림 2D 및 그림 3D) yohimbine 투여 후 특히 BK의 반응지속시간이 연장되는 경향을 볼 수 있었다.

BK에 의하여 유발된 WDR cell의 activity 변동은 반응이 증가되는 excitation형, 억제되는 inhibition형 및 증가 후 억제되는 excitation-inhibition형의 3가지 유형으로 구분되며 이중 56.8%가 excitation형이었다. BK에 의한 WDR cell의 activity 변동에 미치는 clonidine의 영향과 그 작용기전을 알아보기 위하여 먼저 clonidine의 투여 전과 후에 BK에 의한 척수후각세포의 activity 변동(억제 혹은 증가)을 비교하였으며, 또한 BK에 대한 반응이 clonidine에 의하여 변동되었음을 확인한 후 yohimbine이 변동된 BK 반응에 미치는 영향을 관찰한 결과는 그림 4, 5 및 6에서 보는 바와 같다. Excitation형의 WDR cell 반응은 HT cell의 경우처럼 clonidine의 투여에 의하여 유의하게 억제되었으며 이렇게 억제된 반응은 yohimbine에 의하여 거의 clonidine 투여전 대조치로 다시 회복되었다(그림 4). Inhibition형의 WDR cell에 있어서는 clonidine에 의하여 spontaneous activity는 억제되는 반면에 억제된 반응은 오히려 증가되어 excitation형과 유사한 형태로 변화하였으며, clonidine에 의하여 유발된 모든 변동은 yohimbine에 의하여 대조치의 반응치로 환원되었다(그림 5). 한편 excitation-inhibition형의 WDR cell에서는 BK 투여에 의하여 증가된 반응은 clonidine의 투여로 인하여 억제된 반면, 억제된 반응은 증가되어 inhibition-excitation형으로 변화하였다(그림 6).



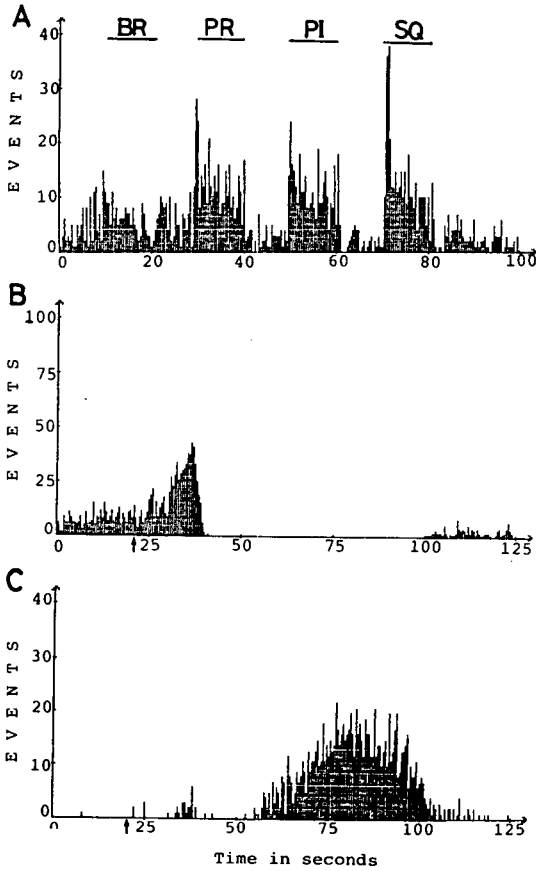
**Fig. 4.** Changes in the excitatory response of WDR cell to bradykinin ( $40\mu\text{g}$ ) by clonidine ( $30\mu\text{g}/\text{kg}$ ) and yohimbine ( $60\mu\text{g}/\text{kg}$ ) in the spinal cat.

- A: WDR cell, showing that it responds both to non-noxious and noxious mechanical stimulation such as brush, pressure, pinch and squeeze.
- B: Control response of WDR cell to intra-arterially administered bradykinin.
- C: Clonidine-induced inhibition of excitatory response of WDR cell to bradykinin.
- D: Recovery of clonidine-induced inhibition of WDR cell response to bradykinin after administration of yohimbine.



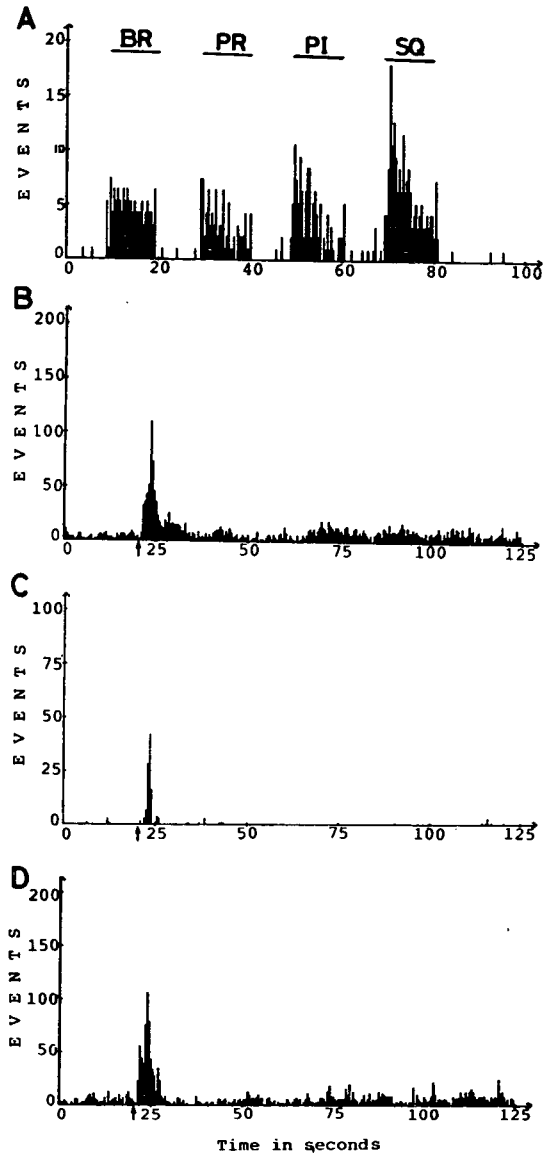
**Fig. 5.** Changes in the inhibitory response of WDR cell to bradykinin by clonidine ( $30\mu\text{g}/\text{kg}$ ) and yohimbine ( $60\mu\text{g}/\text{kg}$ ) in the spinal cat.

- A: Same as illustrated in Fig. 4A.
- B: Inhibitory response of WDR cell to bradykinin.
- C: Clonidine-induced conversion of inhibitory response of WDR cell to bradykinin into excitatory response.
- D: Conversion of clonidine-induced inhibitory response of WDR cell to bradykinin into excitatory response.



**Fig. 6.** Changes in the excitatory-inhibitory response of WDR cell to bradykinin ( $40 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) induced by clonidine ( $30 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) and yohimbine ( $60 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) in the spinal cat.  
 A: Same as illustrated in Fig. 4A.  
 B: Excitatory-inhibitory response of WDR cell to bradykinin.  
 C: Clonidine-induced conversion of excitatory-inhibitory response to bradykinin into inhibitory-excitatory response.

투여된  $\text{K}^+$ 에 대한 WDR cell 반응의 변동에 미치는 clonidine의 영향을 관찰한 실험의 결과는 그림 7에서 보는 바와 같다.  $\text{K}^+$ 의 투여로 WDR cell의 반응이 현저하게 증가되었으며, spontaneous activity도 상당기간 동안 증가된 상태로 유지되었다. 증가된 WDR cell의 activity와 spontaneous activity는 clonidine에 의하여 매우 강력하게 억제되었으며, 억제된 WDR cell의 반응은 yohimbine에 의하여 거의



**Fig. 7.** Responses of WDR cell to intra-arterially injected potassium ion ( $4 \text{mg}$ ) before and after administration of clonidine ( $30 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) and yohimbine ( $60 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) in the spinal cat.  
 A: Same as illustrated in Fig. 4A.  
 B: Control response of WDR cell to  $\text{K}^+$ .  
 C: Clonidine-induced inhibition of response of WDR cell to  $\text{K}^+$ .  
 D: Effect of yohimbine on the clonidine-induced inhibition of WDR cell to  $\text{K}^+$ .



clonidine 투여전 대조치로 회복되었다.

## 고 찰

BK나 K<sup>+</sup>의 투여에 의한 척수후각세포 반응은 잠복기와 지속시간 면에서 사람에서 유발된 통증반응과 동물에서 유발된 pseudo-affective reaction과 잘 일치되므로(Besson et al., 1975) BK는 통증의 기전 연구에 매우 유익한 물질이라고 알려져 있다.

본 실험의 결과는 크게 나누어 3가지로 요약할 수 있다. 첫째, 통증의 유발과는 무관하다고 알려져 있는 LT cell은 BK 및 K<sup>+</sup>등과 같은 통각유발물질의 영향을 전혀 받지 않는 반면에 HT cell과 대부분의 WDR cell은 이들 통각유발물질에 의하여 강력하게 활성화됨을 알 수 있었다. 이와같은 본 실험의 결과는 피부에서 기원된 구심성 섬유중 자극역치가 낮으며 순응속도가 빠른 mechanoreceptor(Beck & Handwerker, 1974)와 C mechanosensitive fiber(Szolcsanyi, 1987)는 BK의 투여에 의하여 전연 영향을 받지 않으나 polymodal nociceptor만 활성화된다(Kumazawa & Mizumura, 1980; Szolcsanyi, 1987)는 연구보고와 hair movement와 light touch 및 pressure에 활성화되며 A 섬유의 입력만 받는 척수후각세포의 반응은 BK에 의하여 변동되지 않는다는 타 연구자들의 연구결과(Guilbaud et al., 1976; Guilbaud et al., 1977)와 잘 일치된다. 또한 척수후각세포중 유해자극과 유해하지 않은 자극에 모두 반응하는 대부분의 WDR cell은 BK에 의하여 영향을 받으며 특히 C 신경섬유의 입력만 받는 척수후각세포가 더욱 강력하게 활성화된다는 사실(Guilbaud et al., 1977; Soja & Sinclair, 1980)과 cold block에 의하여 A 신경섬유의 입력을 차단하여도 BK 투여에 의한 척수후각세포의 반응은 변동되지 않는다는 관찰(Guilbaud et al., 1977; Sinclair, 1980)로부터 BK에 의한 척수후각세포의 반응 유발에는 C 신경섬유가 주도적인 역할을 한다는 주장이 대두된 바 있다. 그러나 과량의 BK를 투여할 경우에는 통증의 유발과는 무관한 non-nociceptive neuron과 순응속도가 빠른 mechanoreceptor도 활성화시킨다는 연구결과(Beck & Handwerker, 1974; Belcher, 1979)도 보고된 바 있다.

한편, Satoh 등(1971)은 정상척수군 동물에서 BK에 대한 척수후각세포의 반응이 소량의 morphine 투여에 의하여 억제되나 척수동물에서는 변동되지 않는 것으로 보아 morphine의 진통작용은 척수후각세포에 대한 직접작용 보다는 descending inhibitory mechanism을 통하여 매개된다고 주장하였으나 대량의 morphine을 투여할 경우에는 척수동물에서도 BK에 의한 반응이 억제된다고 한다.

둘째, 본 실험으로부터 척수동물군에서는 정상척수군에서 보다 더 많은 수의 WDR cell이 BK 및 K<sup>+</sup>에 의하여 활성화된다는 사실도 확인할 수 있었다. 제뇌동물의 동맥내로 BK를 투여하면 lamina V type의 척수후각세포의 activity가 미약하게 활성화되나 제12 흉수부위에서 cold block법을 이용하여 가역적인 spinalization을 유발한 후에는 이들 척수후각세포가 매우 강력하게 활성화되며 자발적인 흥분과 발사 빈도의 증가와 receptive field의 확대현상이 나타난다는 연구결과(Besson et al., 1975)는 BK 투여에 의하여 정상척수군의 동물에서는 약 50%의 WDR cell이 활성화되나 척수동물군에서는 94.6%의 WDR cell이 활성화된다는 본 실험의 결과와 잘 일치되며 이는 척수후각 세포의 activity가 descending inhibitory control system의 영향을 강력하게 받고 있음을 시사한다. Descending inhibitory control에 관여한다고 알려진 뇌간 부위로서는 PAG 및 NRM 등이 지목되고 있으며(Fields et al., 1971; Lewis & Gebhart, 1977; Yeziarski et al., 1982) 이들 부위의 자극에 의하여 유해자극에 대한 척수후각 세포의 activity가 현저하게 억제될 뿐만 아니라 열자극에 대한 tail flick latency도 유의하게 연장되지만 touch와 같은 약한 자극에 대한 척수후각 세포의 반응은 변동하지 않는다고 한다(Brown, 1971). 한편 descending inhibitory control은 정상동물군에서 보다 제뇌동물에서 더욱 더 강력하게 나타난다(Besson et al., 1975)고 알려져 있다.

셋째, BK 및 K<sup>+</sup>의 투여 후 HT cell의 activity는 예외 없이 증가되었으나 WDR cell에서는 excitation 형이 전체의 56.8%로서 가장 많은 비율을 차지하였으며 그 외에 inhibition 형과 증가 후 억제되는 excitation-inhibition형을 볼 수 있었다. 이들 반응중 BK 및 K<sup>+</sup>의 투여에 의하여 증가된 HT cell의 반

응과 WDR cell중 excitation형의 반응은 clonidine의 투여에 의하여 현저하게 억제되었으며 clonidine의 억제작용은 yohimbine의 투여에 의하여 거의 소실되었다. 이와같은 본 실험의 결과로 볼 때 clonidine의 진통효과는 열, 전기 및 기계적 자극에 의한 통증 반응 뿐만 아니라 화학적 자극에 의하여 유발된 통증반응에서도 나타난다고 사료된다.

Clonidine에 의한 진통효과의 발생기전은 PAG (Wang et al., 1985), NRM (Sagen et al., 1983; Sagen & Proudfit, 1985) 및 LC (Jones & Gebhart, 1986) 등을 포함한 뇌간에서 기원된 descending inhibitory control system을 통하여 매개되는 기전과 척수 및 말초신경 수준에서 매개되는 기전으로 구분하여 설명할 수 있다. Clonidine을 피하 혹은 복강 내로 투여할 때 보다는 cisterna 및 뇌실 내로 투여시 보다 강력한 진통효과가 관찰된다는 사실 (Schmidt et al., 1974; Bentley et al., 1977; Yasuoka & Yakshi, 1983)과 blood-brain barrier를 통과하지 못하는 naphazoline 및 4-hydroxy-clonidine을 정맥주사하면 효과가 없으나 뇌실내로 직접 투여시에는 강력한 진통작용 (Schmidt et al., 1974; Marwaha, 1984)이 유발된다는 연구보고는 중추성 기전을 뒷받침한다.

최근 Sagen과 Proudfit등(1985)은 microinjection법을 이용하여 NRM 내로 clonidine과  $\alpha_1$ -agonist인 phenylephrine을 투여하기 전과 후에 tail flick test를 하였던 바 phenylephrine에 의해서는 통각역치가 감소되나 clonidine의 투여 후에는 통각역치가 현저히 증가되는 현상을 관찰하였으며, 이러한 통각역치의 변동은 각각 prazosin 및 yohimbine의 투여에 의하여 정상으로 회복되었다고 한다. 이들 연구자들은 norepinephrine성 물질이 NRM에 작용하여 통각역치의 변동을 유발하는 기전으로서  $\alpha_1$ -agonist는 postsynaptic  $\alpha_1$ -receptor에 작용하여 norepinephrine성 매개물질의 유리를 증가시킨 결과 NRM의 작용이 억제되어 통각역치를 감소시키는 반면에 clonidine 과 같은  $\alpha_2$ -agonist는 presynaptic  $\alpha_2$ -receptor에 작용하여 유리되는 norepinephrine성 매개물질의 양을 감소시킴으로서 raphe-spinal serotonergic neuron의 흥분성을 항진시킨다고 주장하였다. 이와 동시에 raphe-spinal neuron의 분지가 LC를 통하여 bulbo-spinal noradrenergic neuron의

흥분성도 증가시켜 유해자극에 의한 척수후각세포의 통각반응을 억제하여 통각역치를 상승시킨다고 기술하였다. 또한 raphe-spinal serotonergic system과 bulbo-spinal noradrenergic system이 동시에 자극된다는 사실을 뒷받침해 주는 증거로서는 5, 7-dihydroxytryptamine과 6-hydroxydopamine으로 척수내 5-HT와 norepinephrine을 고갈시키면 NRM 내로 투여된 noradrenergic antagonist에 의한 진통효과가 소실된다는 실험결과 (Sagen et al., 1983)를 들 수 있다.

Clonidine의 진통작용이 supraspinal mechanism의 개입 없이 전적으로 척수 및 말초신경을 통하여 매개된다고 시사한 연구 결과가 이미 보고된 바 있다. 제 12 및 제 13 흉추 사이의 척수를 파괴한 척수 동물에서 전기적 자극에 의하여 유발된 굴근반사에 미치는 clonidine의 영향을 관찰한 실험에서 clonidine에 의해  $A\alpha\beta$  섬유 자극으로 유발된 빠른 성분은 전연 변동하지 않으나  $A\delta$  및 C 섬유 자극에 의한 느린 성분이 현저하게 억제되었다는 관찰 (Kwon et al., 1987)과 clonidine은 기계적 자극에 의하여 유발된 척수후각세포의 반응 중 특히 pinch와 squeeze 같은 유해자극에 대한 반응을 더욱 강력하게 억제하며 또한 척수동물군에서도 정상 척수군에서와 유사한 정도로 척수후각세포의 반응을 억제한다는 실험결과 (Chi et al., 1988)는 supraspinal mechanism의 개입 없이도 clonidine의 진통작용이 유발될 수 있음을 시사한다. 한편 척수내에 삽입된 전극으로 역행성 자극법을 시행하여 구심성 섬유의 흥분성 변동에 미치는 clonidine의 영향을 관찰한 실험에서 clonidine은 구심성 섬유 중 A 섬유에는 영향을 미치지 아니하나 C 섬유에서는 primary afferent depolarization (PAD)에 의한 presynaptic inhibition을 유발하며, 이러한 PAD는 yohimbine에 의하여 소실된다는 연구결과 (Calvillo & Ghignone, 1986)는 clonidine에 의한 진통작용은 구심성 섬유에 존재하는 presynaptic  $\alpha_2$ -receptor를 통하여 매개됨을 시사하나 postsynaptic  $\alpha_2$ -receptor를 통하여 매개된다는 상반된 주장 (Wikberg & Hajos, 1987)도 있다. 이상의 연구결과는 clonidine이 supraspinal mechanism에 의존하지 않고도 척수와 말초신경에 존재하는  $\alpha_2$ -receptor를 통하여 진통 작용을 충분히 발현할

수 있음을 의미하며 척수동물을 이용하여 clonidine과 yohimbine의 작용기전을 밝힌 본 실험의 결과와도 잘 합치된다고 믿어진다.

BK의 투여에 의한 WDR cell의 반응중 inhibition형과 excitation-inhibition형은 총 WDR cell의 37.8%를 점유하였다. 이들 WDR cell이 갖는 생리학적인 의의에 관하여서는 전연 알려진 바가 없으므로 계속적인 연구를 통하여 명확히 구명되어야 할 과제라고 사료된다.

## 결 론

척수후각세포의 기능에 미치는 descending inhibitory control system의 영향을 규명하고자 정상척수군과 척수동물군에서 BK 및 K<sup>+</sup> 등의 통각유발 물질에 의하여 활성화되는 척수후각세포의 반응비를 구하고, 통각유발 물질에 의하여 유발된 척수후각세포의 activity 변동에 미치는 clonidine의 영향을 밝히고자 clonidine의 투여 전, 후에 BK 및 K<sup>+</sup>의한 척수후각세포의 activity 변동을 비교하였으며 아울러 clonidine의 작용기전을 구명하기 위한 목적으로  $\alpha_2$ -antagonist인 yohimbine을 투여하였는 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 정상척수군에 비하여 척수동물군에서 보다 많은 수의 WDR cell이 BK 및 K<sup>+</sup>의 투여에 의하여 활성화 되었다.

2) BK 및 K<sup>+</sup>의 투여에 의하여 LT cell은 전연 영향을 받지 아니하였으나 HT cell은 예외 없이 활성화 되었다.

3) BK 및 K<sup>+</sup>의 투여에 의하여 증가된 HT cell의 반응은 clonidine의 투여에 의하여 현저하게 억제되었으며 clonidine에 의하여 억제된 반응은 yohimbine의 투여에 의하여 대조치 반응으로 회복되었다.

4) WDR cell은 K<sup>+</sup>의 투여에 의해서 대부분 활성화 되었으나 BK 투여 후에는 excitation형, inhibition형, 및 excitation-inhibition형 등 다양한 반응으로 구분할 수 있었다. BK 및 K<sup>+</sup>에 의한 WDR cell 반응도 역시 clonidine의 투여에 의하여 억제되었으며, 이러한 억제된 반응은 yohimbine

의 투여에 의하여 거의 정상 수준으로 회복되었다.

이상의 실험결과로부터 clonidine은 열 자극, 전기 자극 및 기계적 자극 뿐만 아니라 통각유발물질에 의하여 유발된 척수후각세포의 반응도 억제하며, 이와 같은 억제작용은  $\alpha_2$ -adrenoceptor를 통하여 매개됨을 알 수 있다.

## REFERENCES

- Baker DG, Coleridge HM, Coleridge JCG & Nerdrum T (1980). Search for a cardiac nociceptor: Stimulation by bradykinin of sympathetic afferent nerve endings in the heart of the cat. *J Physiol* 306, 519-536
- Beck PW & Handwerker OH (1974). Bradykinin and serotonin effects on various types of cutaneous nerve fibers. *Pflugers Arch* 347, 209-395
- Belcher G (1979). The effect of intra-arterial bradykinin, histamine, acetylcholine and prostaglandin E<sub>1</sub> on nociceptive and non-nociceptive dorsal horn neurons of the cat. *Europ J Pharmacol* 56, 385-395
- Bentley GA, Copenland 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
- Besson JM & Chaouch A (1987). Peripheral and spinal mechanisms of nociception. *Physiol Rev* 67, 67-186
- Besson JM, Guilbaud J & Le Bars D (1975). Descending inhibitory influences exerted by the brain stem upon the activities of dorsal horn lamina V cells induced by intra-arterial injection of bradykinin into the limbs. *J Physiol* 248, 725-739
- Blair RW, Weber RN & Forman RD (1982). Responses of thoracic spinothalamic neurons to intracardiac injection of bradykinin in the monkey. *Cir Res* 51, 83-94
- Brown AG (1971). Effect of descending impulses on transmission through the spinocervical tract. *J Physiol* 219, 103-135
- Chapman LF, Ramos AO, Goodell M & Wolff HG (1963). Evidence for kinin formation resulting from neural activity evoked by noxious stimulation. *Ann NY Acad Sci* 104, 258-274
- Chi YC, Kim JH, Koh SD, Shin HK & Kim KS (1988).

- Effect of clonidine on the dorsal horn cell activities in the cat. *Kor J Physiol* 22, 89-100
- Coffman JO (1966). The effect of aspirin on pain and hand blood flow responses to intra-arterial injection of bradykinin in man. *Clin Pharmacol Ther* 7, 26-37
- Collier HOJ, Hammond AR, Horwood-Barrett S & Schneider C (1964). Rapid induction by acetylcholine, bradykinin and potassium of nociceptive responses in mice and its selective antagonism by aspirin. *Nature* 204, 1316-1318
- Fields HL, Basbaum AI, Clanton CH & Anderson SD (1971). Nucleus raphe magnus inhibition of spinal cord dorsal horn neurons. *Brain Res* 126, 441-453
- Fjallbrant N & Iggo A (1961). The effect of histamine, 5-hydroxytryptamine and acetylcholine on cutaneous afferent fibers. *J Physiol* 156, 578-590
- Fleetwood-Walker SM, Mitchell R, Hope PJ, Molony V & Iggo A (1985). An  $\alpha_2$ -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, Benelli G & Besson JM (1977). Responses of thoracic dorsal horn interneurons to cutaneous stimulation and to the administration of algogenic substances into the mesenteric artery in the spinal cat. *Brain Res* 124, 437-448
- Guilbaud G, Le Bars D & Besson JM (1976). Bradykinin as a tool in neurophysiological studies of pain mechanism. *Adv Pain Res Ther* 1, 67-73
- Hodge CJ, Apkariau AV, Stevens R, Vogelsang G & Wisnicki HJ (1981). Locus coeruleus modulation of dorsal horn unit responses to cutaneous stimulation. *Brain Res* 204, 415-420
- Howe GR, Wang J-Y, & Yaksh TL (1983). Selective antagonism of the antinociceptive effect of intrathecally applied alpha adrenergic agonists by intrathecal prazosin and intrathecal yohimbine. *J Pharmacol Exp Ther* 224, 552-558
- 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 S, Dilts L & Gebhart GF (1984). Stimulation in the locus coeruleus/subcoeruleus inhibits the spinal nociceptive tail flick (TF) reflex. *Fed Proc* 43, 998
- Jones SL & Gebhart GF (1986). Characterization of coeruleospinal inhibition of the nociceptive tail-flick reflex in the rat: Mediation by spinal  $\alpha_2$ -adrenoceptors. *Brain Res* 364, 315-330
- Kimura E, Hashimoto K, Furukawa S & Hayakawa H (1973). Changes in bradykinin level in coronary sinus blood after the experimental occlusion of coronary artery. *Am Heart J* 85, 635-647
- Kumazawa T & Mizumura K (1980). Chemical responses of polymodal receptors of the scrotal contents in dogs. *J Physiol* 299, 219-231
- 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 gray (PAG) as 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 pharmacological study of analgesia produced by stimulation of nucleus locus coeruleus. *Psychopharmacology* 62, 169-173
- Marwaha J (1984). Supersensitivity of analgesic responses to  $\alpha_2$ -adrenergic agonists in genetically hypertensive rats. *Brain Res* 304, 363-366
- Mense S (1981). Sensitization of group IV muscle receptors to bradykinin by 5-hydroxytryptamine and prostaglandin  $E_2$ . *Brain Res* 225, 95-105
- Mense S (1982). Reduction of the bradykinin-induced activation of feline group III and IV muscle receptors by acetylsalicylic acid. *J Physiol* 326, 269-283
- 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 column

- of the spinal cord. *Brain Res* 132, 85-93
- Pettinger WA (1980). Pharmacology of clonidine. *J Cardiovas Pharmacol* 2 (Suppl. 1), s21-s28
- Sagen J & Proudfit HK (1985). Evidence for pain modulation by pre- and postsynaptic noradrenergic receptors in the medulla oblongata. *Brain Res* 331, 285-293
- Sagan 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
- Satoh M, Nakamura N & Takagi H (1971). Effect of morphine on bradykinin-induced unitary discharges in the spinal cord of the rabbit. *Europ J Pharmacol* 16, 245-247
- Schmidt H, Le Douarec JC & Petillot N (1974). Antinociceptive effects of some  $\alpha$ -sympathetic agents. *Neuropharmacology* 13, 289-294
- Soja PJ & Sinclair JG (1980). The response of dorsal horn neurons of the cat to intra-arterial bradykinin and noxious radiant heat. *Neurosci Lett* 20, 183-188
- Szolcsanyi J (1987). Selective responsiveness of polymodal nociceptors of the rabbit ear to capsaicin, bradykinin and ultra-violet irradiation. *J Physiol* 388, 9-23
- Wang YC, SU CF & Lin MT (1985). The site and mode of analgesic actions exerted by clonidine in monkeys. *Exp Neurol* 90, 479-488
- 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
- Wikberg JES & Hajos M (1987). Spinal cord  $\alpha_2$ -adrenoceptors may be located postsynaptically with respect to primary sensory neurons: destruction of primary C-afferents with neonatal capsaicin does not affect the number of [ $^3$ H] clonidine binding sites in mice. *Neurosci Lett* 76, 63-68
- Yasuoka S & Yaksh TL (1983). Effects on nociceptive threshold and blood pressure of intrathecally administered morphine and  $\alpha$ -adrenergic agonist. *Neuropharmacology* 22, 309-315
- Yeziarski RP, Wilcox TK & Willis WD (1982). The effect of serotonin antagonist 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