

흰쥐 Tail Flick Reflex의 신경생리학적 기전

서울대학교* 및 경상대학교 의과대학 생리학교실

서 상 아 · 김 전*

(1989년 5월 13일 접수)

= Abstract =

Electrophysiologic Mechanism of Tail Flick Reflex in Rats

Sang Ah Seoh* and Jun Kim

Department of Physiology, College of Medicine, Seoul and Kyungsang National University*

Although tail flick reflex (TFR) in rats has been used as a classic model of the nociceptive test to evaluate the action of analgesics, there have been few studies on the origin of the latent period of TFR. Present study was performed to elucidate the mechanism of increase in latency of TFR by morphine in anesthetized rats.

Tail skin and dorsolateral tail nerve were stimulated electrically and EMG activities were recorded from abductor caudae dorsalis muscle participating in tail flick reflex. In the case of noxious radiant heat stimulation to tail, the tail flick tension was recorded before and after administration of morphine. Then changes in latency and conduction velocity of peripheral nerve were evaluated.

The results obtained were as follows:

1) The latencies of TFR evoked by the electrical stimulation of tail skin and dorsolateral tail nerve were all within 40 ms and were elongated by several milliseconds from control after the administration of morphine. Peripheral conduction velocities of tail flick afferent nerve were within the range of 10-25 m/s.

2) The conduction velocity of peripheral nerve was significantly reduced after morphine administration, therefore the afferent time (utilization time + conduction time to spinal cord) was significantly increased. But the time for central delay and efferent time was not affected by morphine.

3) The conduction velocity under room temperature (20-25°C) was significantly reduced after morphine while that under vasodilation state (40~42°C) increased, 30 min and 45 min after morphine. The conduction velocity under vasodilation state without treatment of morphine increased continuously.

4) The latency in tension response of TFR evoked by electrical stimulation was elongated by several milliseconds from control while the latency evoked by noxious radiant heat was elongated by several seconds compared with that of control.

From the above results, it could be concluded that: 1) the increased latency of TFR evoked by electrical stimulation of the tail after morphine administration was due to the reduction in conduction velocity of peripheral nerve, which was the secondary effect of morphine on the peripheral vasomotion and 2) increased latency of TFR evoked by noxious radiant heat was also due to the same effect of morphine and the increase in cutaneous insulation to the noxious heat.

Key Words: EMG, Tail flick latency, Conduction velocity, Morphine

이 논문은 1988년도 문교부 지원 한국학술진흥재단의 자유공모과제 학술연구 조성비 및 1986년도 서울대학교병원 특진연구비의 지원으로 수행되었음.

서 론

동통연구의 동물실험 모델로는 고양이에서의 회피반사, 원숭이의 척수시상로 세포(spinothalamic tract cell)의 활동 등 전기생리학적 방법과 주로 흰쥐를 사용한 행동과학적 방법들인 tail flick reflex (TFR), hot plate법, vocalization법 등이 많이 사용되어 왔다.

그러나 연구목적에 따라 위의 방법들중 어느 것을 선택할지는 쉽지 않은 문제이다. 한 예로 고양이는 회피반사를 연구하는데 좋은 모델이지만 사람에서 통증 정보를 전달하는 주된 통로라고 생각되는 척수시상로가 발달되어 있지 않으므로 (Willis & Coggeshall, 1978) 통증 정보전달에 관한 이 경로의 기능이 명확하지 않다.

흰쥐의 경우 척수시상로가 발달되어 있고 통증과 관련이 있을 것으로 보고되어 있고 (Giesler et al, 1976) 척수시상로 세포의 활동을 비교적 쉽게 기록할 수 있으며 더구나 D'Amour & Smith (1941) 이래로 TFR이 모르핀 (이후 MOR) 등의 진통효과판정 (Irwin et al, 1951, Levine et al, 1980, Yoburn et al, 1985)에 널리 쓰이고 있으므로 좋은 동물실험 모델이 될 수 있다.

그러나 이 방법은 흰쥐가 깨어있는 상태에서 꼬리에 유해한 열 자극을 가한 후 꼬리를 움직일 때까지의 잠복기(latency)를 구하는 방법이다. 이때 대조상태서 TER의 잠복기가 2~3초 되도록 열자극을 조절하고 모르핀등 진통제를 투여하면 잠복기가 수초이상 길어지며 심하면 유해한 열자극에 대하여 전혀 TFR이 일어나지 않는다.

사실 TFR을 단순한 회피반사(flexion reflex)로 본다면 그 반응은 수백 ms내에 일어나야 하는데 수초 이상이 걸리는 것은 이러한 시간이 중추신경계내에서 혹은 말초에서 걸리는 시간인지는 아무도 모르는 실정이다.

이러한 TFR의 결과와 회피반사, 척수시상로 세포의 활동 등을 연관시킬 수 있으면 통증의 기전을 이해하는 데에 좋은 방법이 되겠지만 TFR는 동물이 깨어 있는 상태에서 연구하는 것으로 마취상태에서 실시하는 전기생리학적 방법들과는 직접 연관이

키기에는 어려운 점이 많다.

이런 관점에서 마취하에서 TFR을 연구하려는 "fictive TFR" (Cargill et al, 1985)이 개발되었다. Cargill등의 "fictive TFR"에 의하면 꼬리를 기계적으로 자극할 때의 잠복기는 짧은데 비하여 열자극을 가하고 구심신경섬유나 감각경로 중에서 기록하면 잠복기가 길어진다는 보고를 볼 때 열자극시에 관찰되는 긴 잠복기는 중추기전 외에 말초기전이 있으리라 추정된다.

최근 들어 흰쥐 등쪽의 정밀한 해부학적 연구 (Brink & Pfaff, 1980)와 TFR의 신경해부학적인 연구 (Grossman et al, 1982)가 보고되었다. 그러나 Mitchell & Hellon (1977) 과 Necker & Hellon (1978) 등은 TFR와 관련있는 감수체는 C-polymodal nociceptor이고 구심 신경섬유의 활동의 역치온도가 43.7°C라고 보고한 바 있으나 이들이 TFR을 유발시키는지는 확실하지 않다.

또한 뇌와 척수를 전기자극하거나 모르핀 등의 진통제를 미세주입하면 TFR의 잠복기가 길어진다는 보고 (Levine et al, 1980, Sandkuhler et al, 1984, Vanegas et al 1984, Duggal et al., 1985, Ness et al, 1986)와 척수내 날록손투여로 뇌를 전기자극시 길어지는 잠복기를 역전시키는 것 (Fields et al, 1982) 등의 보고들은 TFR에 대한 중추기전이 있음을 증명한 것이다.

이렇듯 열자극에 의한 TFR는 행동과학적 방법으로 일년에도 수천 건의 실험결과가 이 방법을 동물 반응의 지표로 쓰고 있지만 실제로 1. TFR를 시발시키는 감수체와 구심신경, 2. TFR의 잠복기가 길어야 하는 이유, 3. TFR와 회피반사와 관계, 4. TFR와 감각경로 세포들과의 관계 등은 아직도 규명되지 않은 상태이다.

본 실험에서 흰쥐에서 전기자극을 가하여 유발시킨 tail flick reflex (이하 TFR)의 잠복기를 관찰하고 TFR의 잠복기의 기원을 신경 생리학적으로 추정하고자 하였다. 이를 규명하기 위하여

1) 말초 감각신경인 dorsolateral tail nerve와 꼬리피하에 전기자극을 가하고 유발되는 반응을 abductor caudae dorsalis 근육에서 EMG로 기록하고 MOR투여 전후의 잠복기와 구심 신경의 전도속도의 변화를 관찰하였다.

2) MOR의 작용기전을 밝히기 위하여 전기자극 후 흥분이 척수에까지 도달하는 시간과 척수에 효과까지 도달하는 시간의 변화를 MOR투여 전후로 관찰하였다.

3) MOR의 말초작용을 검토하기 위하여 꼬리를 실온(20~25°C)상태와 40°C상태에서 두고서 MOR투여 전후의 구심신경의 전도 속도를 비교 관찰하였다.

4) 꼬리에 유해 열자극을 가해서 MOR투여 전후로 TFR의 잠복기를 구하여 위의 결과들과 비교분석함으로써 TFR의 신경생리학적인 기전을 규명하고자 하였다.

실 험 방 법

1. 신경생리학적 반사시간 측정

1) 실험동물 준비 : 흰쥐를 atropine(0.5 mg)으로 전처치한 후 pentobarbital sodium(초기용량 50 mg/kg, i.p., 유지 용량 5~10 mg/kg/hour, i.v.)으로 마취하고 기관을 열어 기도카테터를 삽입하였다. 경동맥카테터를 통하여 동맥혈압을 연속감시하였고 경정맥카테터를 통하여는 수액을 공급하고 필요한 약물의 주입로로 이용하였다.

등쪽 피부를 절개하여 TFR에 관여하는 근육중 하나인 abductor caudae dorsalis(이후 ACD)를 박리하여 EMG를 기록하였고, 말초감각신경인 dorsolateral tail nerve(이후 DLTN)를 분리 절단하여 중추단을 자극하였다.

또한 이 실험은 모르핀의 말초작용 검토를 위하여 실온 상태와 혈관확장 상태에서 수행되었는데 꼬리의 혈관확장을 위하여는 mineral oil pool을 thermostat로 조절하여 40~42°C로 유지하고 꼬리를 pool에 담구어 피부온도를 높은 상태로 유지하였다.

2) 자극 및 기록 : tail skin을 자극하기 위하여 needle electrode를, DLTN를 자극하기 위하여는 백금으로 된 bipolar electrode를 사용하였다. 자극은 자극기(Ceptu)를 사용하여 isolator(WPI)를 통하여 C-강도의 square pulse(0.5 ms 자극기간)로 자극하였고 이 때 유발되는 회피반사를 ACD근육에서 근전도로 또는 꼬리에 force transducer를 연결하여 tension으로 기록되는 것을 interface(CED 1401)를

통한 후 computer로 부호평균법(signal average)을 사용하여 처리하였다.

2. 유해열자극에 대한 TFR의 잠복기 측정

흰쥐를 깨어 있는 상태에서 플라스틱 틀에 넣고 안정시킨 후 projecting lamp를 개조한 열자극기로 꼬리의 끝 부분에 열자극을 가하고 꼬리를 움직일 때까지의 시간을 측정하기 위하여 꼬리에 force transducer를 설치해서 tension을 기록하였다. 이때 대조상태의 잠복기는 2~3초가 되도록 온도를 조절하였다.

3. 통계처리

한그룹내에서는 모두 student t-test로, 두 그룹간에는 Wilcoxon rank-sum test로, 세 그룹간에는 Kruskal-Wallis test로 그 유의성을 검정하였다.

실 험 성 적

그림 1은 꼬리피부와 말초감각신경인 DLTN를 자극하였을 때 유발된 반응의 예를 보인 것이다.

그림 1-a에서는 꼬리 피하를 전기자극하면서 ACD근육에서 EMG를 기록한 것을, 그림 1-b에서는 말초 감각신경섬유인 DLTN을 전기 자극하면서 ACD 근육에서 EMG를 기록한 예를 보였다.

근전도 활동은 자극후 40 ms 이내에(왼쪽) 있었고 그 전도속도는 10~25 m/s였으며 그후 7초동안(오른쪽) 관찰하였으나 다른 반응은 관찰되지 않았다.

그림 1-c는 피하를 전기자극하고 말초 감각신경에서 기록한 복합활동전압(이후 CAP)의 예이다. 일정하게 나타나는 CAP는 5 ms 내에 있었다.

이후의 실험은 EMG상 그 잠복기가 40 ms 이내이면서 전도 속도가 10~25 m/s에 속하는 것을 대상으로 수행되었다.

그림 2는 DLTN과 꼬리 피하를 전기자극하면서 MOR(2 mg/kg, i. v.)투여 전후로 EMG로 기록되는 회피반사의 잠복기를 관찰한 것이다.

그림 2-a에서 DLTN자극시 대조상태의 잠복기가 25 ms에서 MOR투여 30분에 29 ms로 4 ms 증가하였다가 MOR 길항제인 naloxone(0.08 mg/kg, i. v., 이

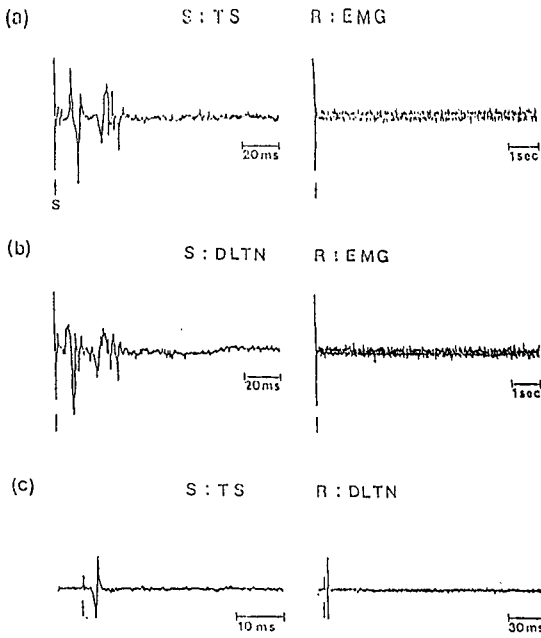


Fig. 1. Tail flick responses to electrical stimulation of tail skin (TS) and dorsolateral tail nerve (DLTN). EMG activities recorded from the left abductor caudae dorsalis muscle which were evoked by electrical stimulation of the tail skin (a) and the dorsolateral tail nerve (b). Compound action potential was also recorded from peripheral nerve after stimulation of the tail skin. Note that all the responses appeared within 40 ms after stimulation (left column) and no response was followed after these components (right column). Arrows indicate stimulations. Horizontal bars indicate time scales.

하 NLX) 투여후 15분에 25 ms으로 돌아오는 것을 보여주었다.

그림 2-b에서 피하 자극시에도 대조상태의 잠복기가 24 ms에서 MOR투여 30분에 33 ms으로 9 ms 증가함을 보였고 NLX투여 15분에 25 ms으로 돌아왔다.

그림 3에서는 37마리의 실험동물에서 MOR 및 NLX투여로 인한 회피반사 잠복기의 변화를 경시적으로 관찰하여 종합한 것이다.

DLTN에 전기자극을 가하고 ACD 근육에서 EMG를 기록한 군(n=5)에서 대조상태의 잠복기가 25.7 ± 1.6 ms이던 것이 MOR 투여 15분에 $27.4 \pm$

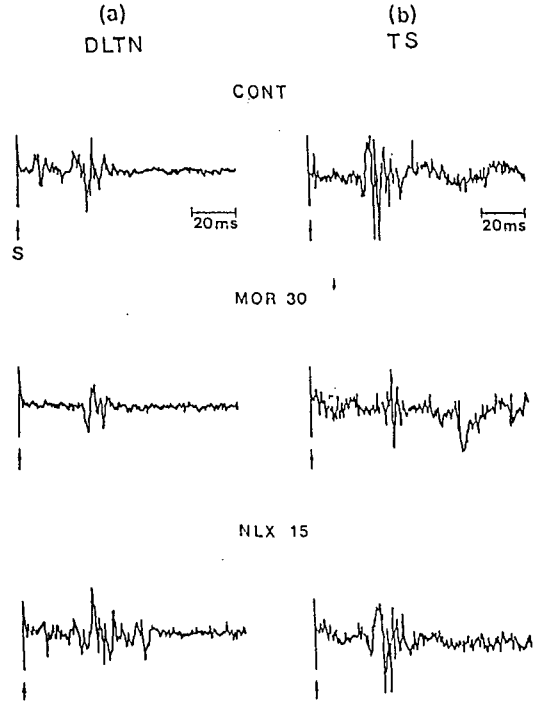


Fig. 2. Effects of morphine (2 mg/kg, i.v.) on the tail flick latency evoked by electrical stimulation of the dorsolateral tail nerve (a) and the tail skin (b). The latencies of TFR at 30 minutes after administration of morphine (middle trace) were longer than control (upper trace) by 4ms (a) and 9ms (b) and the latencies in both were recovered 15 minutes after administration of naloxone (lower trace). MOR 30 : 30 min after morphine, NLX 15 : 15 min after naloxone.

1.0, 30분에 28.6 ± 1.5 , 45분에 28.5 ± 2.1 ms으로 변화하였고, NLX투여 15분에 24.7 ± 0.6 , 30분에 26.1 ± 1.4 ms이었다.

동일한 실험조건에서 피하를 전기자극한 군(n=32)에서 대조상태의 잠복기가 27.8 ± 1.1 ms에서 MOR투여 15분에 31.3 ± 0.9 , 30분에 32.0 ± 0.9 , 45분에 32.1 ± 1.1 ms이었고, NLX투여 15분에 30.0 ± 1.1 ms으로 줄어 들었다. 이 두 군에서 잠복기가 모두 MOR 투여 15~45분에 증가하였고 30~45분에 최대로 늘어났으며 NLX투여로 거의 대조상태의 잠복기로 줄어 들었다.

전기자극으로 유발된 회피반사의 잠복기가 MOR에 의해 연장된 것이 반사궁(감수기-감각신경-척수

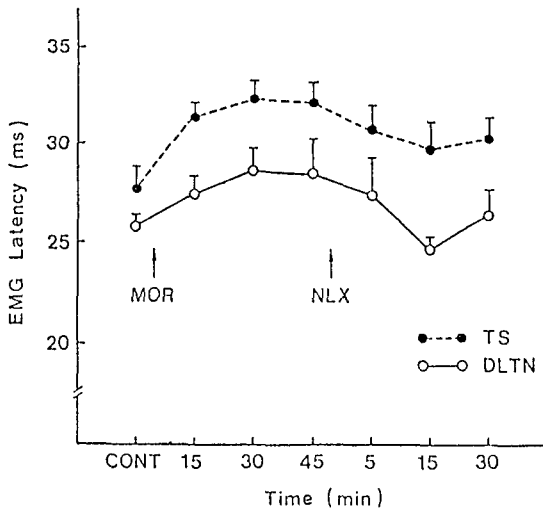


Fig. 3. Changes in the latency of TFR evoked by electrical stimulation of dorsolateral tail nerve (open circle, $n=5$) and tail skin (filled circle, $n=32$) before and after administration of morphine and naloxone. Arrows indicate the time injecting morphine and naloxone. The latencies were maximally elongated 30 minutes after morphine and recovered 15 minutes after naloxone.

-운동신경-효과기)의 어느 수준에서 일어났는가를 밝히기 위하여 자극에서부터 반사가 일어나기까지의 시간을 크게 척수에서 척수까지 도달하는 시간과 척수에서 척리 되고 효과기까지 도달하는 시간으로 나누어서 생각하였다. 전자는 자극부위에서 척수까지의 거리를 말초감각신경의 전도속도로 나누어 구하였으며 후자는 전자를 제하여 구하였다. 먼저 자극에서 척수까지 도달하는 시간이 MOR에 의하여 영향을 받는가를 알기 위해 말초 감각신경의 전도속도를 MOR투여 전후로 그 변화를 관찰하였다.

그림 4-a는 동일한 쥐에서 꼬리피하 일정한 거리를 두고 꼬리의 근위부(proximal 1/3 part of the tail)와 원위부(distal 1/3 part of the tail)로 두 장소를 자극하면서 ACD 근육에서 EMG를 기록하여 잠복기의 차이를 관찰하여 꼬리에서의 구심신경의 전도속도를 구하는 실험방법을 그림으로 도식화하였다. 그림 4-b는 꼬리에서의 두 전기자극 장소의 거리 차이를 60mm로 했을 때의 예이다. 대조상태의

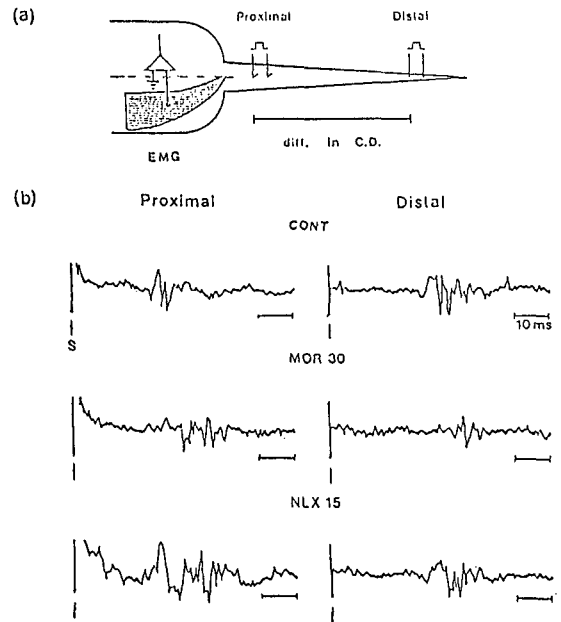


Fig. 4. A schematic diagram of the method for determining the conduction velocity (CV) of peripheral nerve (a). Two stimulation-sites were selected in proximal 1/3 and distal 1/3 of the tail, and recording site was the same in the abductor caudae dorsalis muscle as in other figures. A typical experiment was shown in (b). The CV was calculated before and after morphine and naloxone. CV (24 m/s) was shortened to 13.3 m/s at 30 minutes after injection of morphine.

잠복기가 근위부(proximal)자극시 21.5 ms, 원위부(distal) 자극시 24 ms으로 구심신경의 전도속도가 24 m/s이던 것이 MOR 투여 30분에 잠복기가 각각 29 ms, 33.5 ms으로 구심신경의 전도속도가 13.3 m/s으로 감소하였고, NLX투여 15분에 잠복기가 각각 23 ms, 25 ms으로 전도속도는 30 m/s으로 오히려 대조상태의 전도속도보다 더 빨라짐을 관찰하였다.

그림 5-a에 흰쥐 8마리에서 동일한 실험을 수행한 결과를 막대 그래프로 나타내었다. 대조상태의 구심신경의 전도속도가 21.6 ± 3.7 m/s이었고 MOR투여 30분에 12.1 ± 3.3 m/s ($p < 0.05$)으로 유의하게 감소하였으며 NLX투여 5분에 15.7 ± 8.0 m/s으로 돌아오는 경향을 보였다.

그림 5-b에서는 동일군에서의 같은 전도속도로

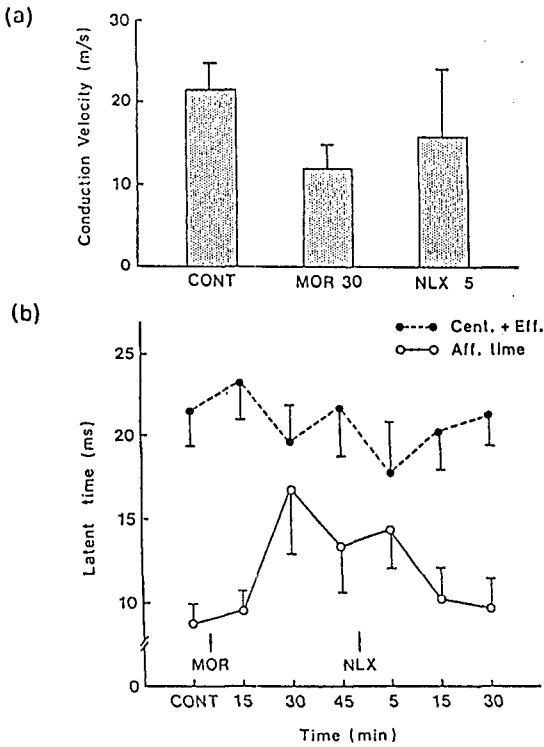


Fig. 5. (a) Changes in conduction velocity (CV) through peripheral nerve before and after morphine and naloxone ($n=8$). Vertical bar indicates the standard error of mean. MOR 30 : 30 min after morphine. NLX 5 : 5 min after naloxone. The CV at 30 minutes after morphine was reduced significantly. (b) The afferent time (utilization time+conduction time to spinal cord, open circle) and the time for central delay and efferent time (filled circle) were estimated before and after morphine. The afferent time was significantly increased while the central delay and efferent time was not affected by morphine. Vertical bar indicates the standard error of mean.

흥분이 자극 후 척수까지 도달하는 시간(afferent time)을 계산한 결과를 표시하였는데 대조상태에서 8.7 ± 1.3 ms이던 것이 MOR투여 30분에 16.7 ± 4.1 ms ($p < 0.05$)으로 유의하게 늘어났고 NLX 투여후 15분에 10.3 ± 1.9 ms으로 돌아왔다. 반면 전체 잠복기에서 척수까지 도달하는 시간을 빼, 척수에서 처리되어 효과기까지 걸리는 시간(central delay+

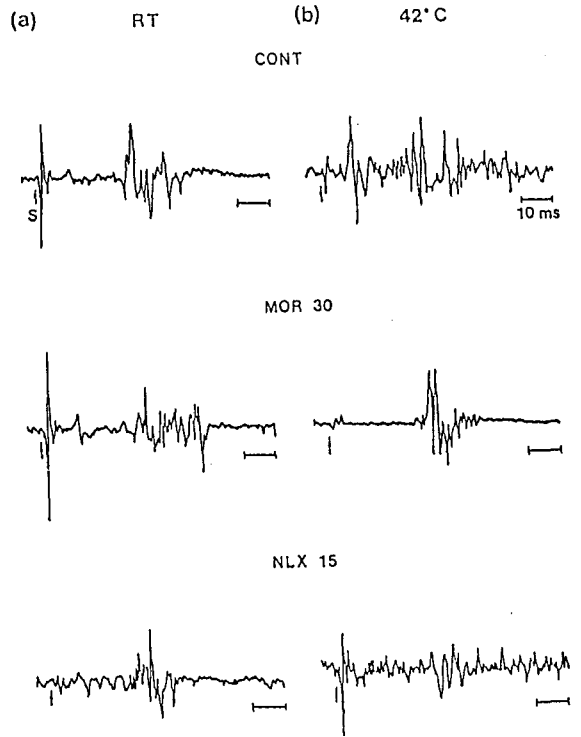


Fig. 6. A comparison of latencies of TFR evoked by electrical stimulation of the tail skin under room temperature (20~25°C, a) with those under vasodilation state (40~42°C, b) before and after morphine. At 30 minutes after morphine the latencies were elongated by 4 ms (a), 2 ms (b) from those of control, respectively. The latency under vasodilation state was affected less by morphine than that under room temperature.

efferent time)은 대조상태서 21.0 ± 2.2 ms이던 것이 MOR투여후 30분에 19.7 ± 2.3 ms ($p > 0.05$)으로 유의한 변화는 없었고 NLX 투여 15분에는 20.3 ± 2.3 ms이었다. 이러한 결과는 TFR의 잠복기에 대한 MOR의 효과가 중추에 있다기보다는 오히려 말초에 있음을 시사하는 것이었다.

그림 6은 MOR의 말초작용을 검토하기 위하여 실시한 실험예이다. 일반적으로 MOR은 말초신경에 직접 작용하지는 않으므로 MOR의 말초기전이 있다면 이는 MOR의 순환계에 미치는 효과에 따른 2차적인 것으로 가정하였다. 이에따라 실온(20~25°C)상태에서와 mineral oil pool을 이용하여 40

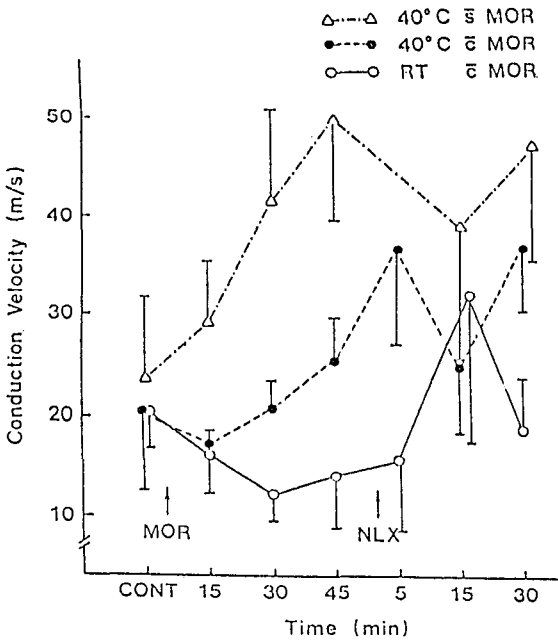


Fig. 7. Changes in conduction velocities (CV) through dorsolateral tail nerves under the states of room temperature ($n=8$, open circle) and vasodilation ($n=6$, filled circle), before and after morphine and that of vasodilation without morphine ($n=3$, open triangle). Note that the CV at room temperature was reduced significantly after morphine but the CV under vasodilation with morphine was reduced slightly at 15 minutes, following the increase at 30~45 min after morphine and that under vasodilation without morphine increased continuously.

~42°C로 유지하고 꼬리 전체를 담구어 혈관을 충분히 확장시킨 상태에서 동일한 실험을 수행하여 MOR이 두 실험조건에서 잠복기와 구심신경의 전도속도에 미치는 영향이 다른가를 관찰하였다.

실온에서 대조상태의 잠복기가 25.4 ms에서 투여 후 30분에 29.4 ms으로 4 ms이 증가하였고 NLX 투여 후 15분에 26 ms으로 돌아왔으며 40~42°C에서는 대조상태 26 ms에서 MOR투여 후 30분에 28 ms으로 2 ms증가하였고 NLX투여 후 15분에 26 ms로 대조상태의 잠복기로 돌아왔다.

꼬리의 혈관을 확장시킨 상태에서의 실험은 흰쥐 12마리에서 수행되는데 이들의 평균 잠복기가 대조

상태 27.5±0.7 ms에서 MOR투여 30분에 29.0±0.7 ms($p<0.05$)으로 유의하게 증가하였으며 NLX 투여 15분에 27.9±1.2 ms으로 돌아왔다. 이 결과와 실온에서 MOR이 잠복기에 미치는 영향을 비교해 볼 때, 실온에서 대조상태 잠복기는 27.8±1.1 ms ($n=32$)에서 투여 후 30분에 32.0±0.9 ms으로 40°C 상태보다 실온에서 MOR의 영향이 더 크다는 것을 알 수 있었다. 이 두 그룹간에 있어 MOR 투여 후 30분에서 유의한 차이로 ($p<0.05$) 잠복기의 증가 정도가 달리 나타났다.

그림 7은 이 두 실험상태에서 말초 구심신경의 전도속도를 비교 관찰한 것이다. 또한 이들에 대해 흰쥐 세 마리에서 40°C로 유지할 때 온도증가로 인해 전도속도가 변화하는 것을 관찰하여 대조군으로 삼았다.

40°C에서 MOR처치 안한 대조그룹($n=3$)에서는 그 전도속도가 23.6±8.3 m/s이던 것이 15분에 29.2±6.5 m/s, 30분에 41.7±9.3 m/s으로 증가하였고 45분에 50.0±10.0 m/s으로 최대로 증가하였고 MOR 처치군에서 NLX 투여 후 15분에 해당하는 60분 경과시 39.1±15.9 m/s으로 다소 감소하였다.

40°C에서 MOR을 처치한 그룹($n=6$)에서는 대조상태에서 전도속도가 21.2±4.5 m/s이던 것이 MOR투여 후 15분에는 16.4±1.0 m/s으로 일시적인 감소를 보이다가 MOR투여 후 30분부터 20.6±2.9, 45분에 25.4±4.5 m/s, NLX 투여 후 15분에 36.8±10.5 m/s 등으로 전도속도 증가현상을 보였다.

실온에서 MOR을 처치한 그룹($n=8$)에서는 대조상태의 구심신경의 전도속도가 21.6±8.7 m/s 이던 것이 MOR 투여 후 15분에 16.0±4.3, 30분에 12.1±3.3, 45분에 14.2±5.8 m/s으로 감소하였다가 NLX 투여 후 15분에 31.2±14.9 m/s으로 위의 두 그룹과는 다른 경향을 보였다.

이들간의 유의성을 보면 40°C에서 MOR처치한 그룹과 실온에서 MOR처치한 그룹사이에 MOR투여 30~45분에 유의한 차이를 보였다. 또한 대조군을 포함한 세 그룹간에 있어서의 구심신경의 전도속도는 MOR투여 15분 - NLX투여 5분까지 유의한 차이를 보이는 것으로 나타났다.

이러한 결과로 유추해 볼 때, 전기자극 유발에 의한 회피반사의 잠복기에대한 MOR의 기전은 흰쥐

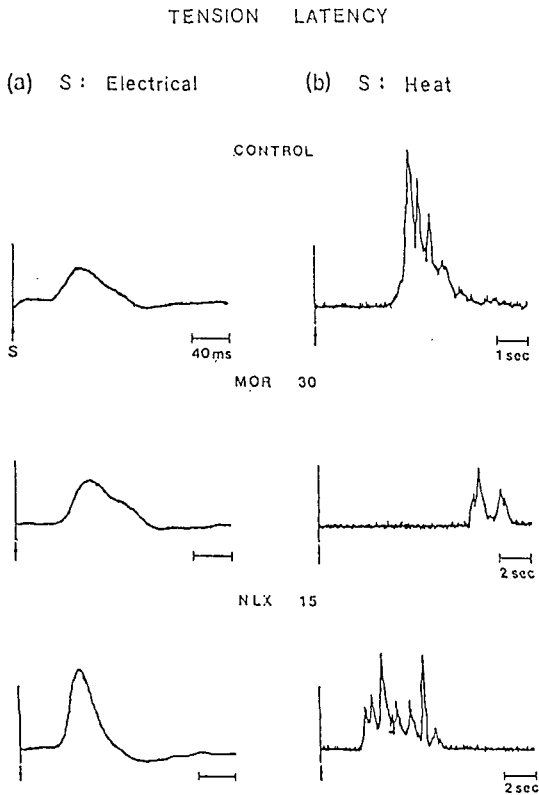


Fig. 8. Comparison of changes in latencies of TFR evoked by electrical stimulation (a) with noxious heat (b) before and after morphine. Note that the latency of TFR evoked by electrical stimulation was elongated from 40 ms to 45 ms at 30 min after morphine but that by noxious heat was elongated from 2.5 s to 6.2 s. Injection of naloxone recovered the latencies in both to control (41 ms, 2.4 s, respectively).

꼬리의 혈관을 수축시킴으로써 구심신경의 전도속도를 감소시켜 잠복기를 증가시킨다는 것을 시사하였다.

그림 8-a는 흰쥐의 꼬리피하를 전기자극하면서 꼬리의 끝부위를 force transducer에 연결하여 MOR투여 전후로 tension을 기록하여 잠복기를 관찰하였다. 대조상태의 잠복기가 40ms에서 MOR투여 후 30분에 45ms으로 증가하였고 NLX투여 후 15분에 41ms으로 돌아왔다.

동일한 실험을 흰쥐 10마리에서 수행하였을 때 대

조상태의 잠복기가 33.4 ± 2.6 ms에서 MOR투여 후 15분에 40.2 ± 3.0 , 30분에 42.8 ± 2.9 , 45분에 38.3 ± 2.7 ms이었고 NLX투여 후 15분에 35.7 ± 3.1 , 30분에 36.2 ± 2.5 ms이었다.

그림 8-b에서는 흰쥐의 꼬리에 projector lamp로 유해 열자극을 가하면서 꼬리의 끝 부위를 force transducer에 연결하여 꼬리가 움직일 때까지의 잠복기를 구한 것이다. 대조상태의 잠복기가 2.5초에서 MOR투여 30분에 9.7초로 무려 7.2초나 증가하였으며 NLX투여 15분에 다시 2.4초로 돌아왔다.

동일한 실험을 흰쥐 4마리에서 행하였을 때 잠복기는 대조상태가 2.1 ± 0.2 s에서 MOR투여 후 15분에 5.0 ± 0.7 , 30분에 7.0 ± 1.5 , 45분에 5.9 ± 0.3 s이었고 NLX투여 후 15분에 4.4 ± 0.4 , 30분에 3.4 ± 0.2 s으로 변하였다.

고 찰

동통연구의 동물실험 모델로 1941년 D'Amour & Smith 이래로 흰쥐에서 주로 유해 열자극으로 유발된 tail flick reflex (TFR)가 모르핀 등의 진통효과 판정에 널리 쓰여 왔다 (Irwin et al, 1951, Levine et al, 1980, Yoburn et al, 1985). 이 방법은 동물이 깨어 있는 상태에서 꼬리에 유해한 열자극을 가한 후 꼬리를 움직일 때까지 잠복기를 구하는 방법으로서 대조상태의 TER의 잠복기가 2~3초되게 열자극을 조절하고 모르핀 등의 진통제를 투여하면 TFR의 잠복기가 수 초이상 증가하며 심한 경우는 유해 열자극에 대해 전혀 TFR을 일으키지 않는다. 그런데 유해 열자극에 의한 TFR를 단순한 회피반사(spinal flexion reflex)로 본다면 TFR의 회피반사궁은 감수기, 구심신경, 중추(척수), 운동신경, 효과기 등으로 생각할 수 있다. 그러므로 유해 열자극에 의한 반응도 수백 ms이내에 일어나야 하는데 MOR 투여 후 대조상태보다 수 초 이상이 걸리는 바 이러한 시간이 실제로 중추신경계내에서 걸리는 시간인지, 아니면 말초에서 걸리는 시간인지는 아직도 규명되지 않고 있다.

1985년 Cargill 등이 흰쥐를 pentobarbital sodium으로 마취하고 근육이완제인 gallamine triethiodide로 EMG활동을 없앤 후 꼬리에 유해열자극을 가하

고 전기생리학적인 방법으로 운동신경에서 단일활동전압을 기록하는 “fictive TFR”를 실험모델로 개발하였다. 이들에 의하면 꼬리를 기계적으로 자극하면 그 잠복기는 짧은데 비해 열자극을 가한 경우는 잠복기가 길어진다고 한 보고를 볼 때 열자극 때의 긴 잠복기는 MOR의 중추기전외에 말초기전이 있으리라는 것을 시사하였다.

또한 흰쥐에서 MOR과 MOR-like opiate인 β -endorphin을 저농도로 투여하였을 때는 hyperthermia (Holaday et al, 1978)를, 고농도 투여시는 hypothermia (Boon et al, 1976, Tseng et al, 1977, Holaday et al, 1978)를 초래하며 이는 MOR에 의해 체온 조절 효과기들(peripheral vasomotor tone, shivering, metabolism, evaporative heat loss without affecting set point)의 활동에 영향을 주어 체온을 상승시킨다는 보고 등을 볼 때, 흰쥐에서의 TFR의 잠복기에 대한 MOR의 영향이 중추기전외에 말초기전이 있을 가능성을 시사한다.

그러나 중뇌, 뇌교, 연수 등의 뇌간에 진통제를 미세주입하거나, 직접 전기자극을 하면 열자극에 의한 회피반사의 잠복기가 길어진다는 보고 (Levine et al, 1980, Sandkuhler et al, 1984, Vanegas et al, 1984, Duggal et al, 1985, Ness et al, 1986) 등은 TFR에 대해 중추기전이 있음을 시사한 것으로 TFR에 centrifugal modulation으로 descending inhibition이 있음을 증명한 실험들이었다. 이상과 같이 흰쥐에서의 TFR의 잠복기에 대한 MOR의 영향이 중추기전에 의한 것인지, 말초기전에 의한 것인지, 아니면 둘 다에 의한 것인지 아직 잘 모르고 있는 실정이다.

본 실험에서는 전기자극으로 유발된 TFR의 잠복기가 MOR 투여 후 유의하게 증가하였고 NLX투여로 대조상태로 돌아왔으며, MOR이 말초기전에 의하여 잠복기를 증가시키는 가를 알아보기 위한 실험에서, 말초 감각신경의 전도속도가 MOR에 의해 유의하게 감소하여 이것은 척수로 들어가기 이전에 벌써 말초에서도 MOR에 의해 영향을 받는다는 것을 시사하였다. 또 흥분이 자극에서부터 척수에 도달하기까지의 시간(감수기와 감각 신경에서 걸리는 시간)을 계산해 본 결과, MOR투여후 유의하게 증가한 반면에 전체 잠복기에서 이 시간을 뺀 척수,

운동신경, 효과기에서 걸리는 시간은 MOR에 의하여 유의한 영향이 없는 것으로 나타났다. 이는 MOR에 의한 잠복기의 증가가 중추에서보다 말초에서 일어남을 시사하였다.

MOR의 말초작용으로 생각할 수 있는 것은 혈관에 대한 영향으로, 이를 검토하기 위한 실험에서 보면 40°C에서 혈관을 확장시키고 아무런 처치를 안한 대조군에서 단순히 온도 증가로 인하여 전기자극에 의한 TFR의 구심신경의 전도속도가 증가하였고 40°C에서 혈관을 확장시키고 MOR을 투여한 군에서는 MOR투여 15분후에 전도속도가 일시적으로 감소하였다가 곧 대조군과 같은 증가현상을 보였다. 반면 실온(20~25°C)에서 MOR을 처치한 경우에는 말초감각신경의 전도속도가 MOR투여후 15분부터 유의하게 감소하였고 위 두 그룹과는 달리 45분까지 계속 대조상태보다 감소함을 보였고 NLX투여 후에야 대조상태의 전도속도로 돌아옴을 보여 주었다. 이는 MOR이 혈관을 축소하는 것과 같은 영향을 주어 전도 속도의 감소를 초래하였음을 시사하는 실험결과라고 할 수 있다.

이러한 실험결과는 흰쥐에서 저농도의 MOR을 정맥투여하면 혈관축소의 기전으로 hyperthermia를 야기시킨다는 것 (Holaday et al, 1978)과 그 기전상 유사한 것으로 생각된다. 또한 꼬리 피하를 전기 자극하고 꼬리의 끝 부위에 force transducer를 연결하여 tension을 기록하여 잠복기의 변화를 관찰한 실험에서 대조상태의 전도속도는 10~25 m/s에 해당하였고, 대조상태의 잠복기는 MOR투여후 수 ms가 증가하였다가 NLX투여로 대조상태의 잠복기로 돌아오는 것으로 볼 때 근육에서 EMG로 기록한 것과 같은 기전으로 MOR에 의해 잠복기가 증가하였다고 생각할 수 있다.

전기자극 유발에 의한 회피반사의 잠복기는 MOR에 의해 단지 수 ms 정도의 증가를 보이는 것으로 이런 정도의 증가로는 꼬리에 유해 열자극을 가하고 tension을 기록하여 잠복기의 변화를 MOR투여 전후로 관찰하였을 때에 그 잠복기가 무려 수 초 이상이나 길어진다는 것을 설명할 수는 없다. 이 두 실험에서의 차이는 1. 자극방법의 차이로 하나는 전기 자극이고 다른 하나는 열자극으로서, 열자극시는 열이 피부로 확산해 들어가는 시간이 필요하다는 것

과 2. 열자극시는 혈관운동에의해 피부의 열절연도가 쉽게 영향을 받을 수 있다는 것이 다르다. 따라서 전기자극에 의해 유발된 TFR의 잠복기가 MOR의 말초작용으로 인해 혈관축소를 일으키는 것으로 볼때 열자극시의 긴 잠복기도 MOR이 피부의 혈관을 축소시킴으로써 피부의 열절연도가 높아져 열자극이 열수용기를 활성화 시키기 위한 이용시 (utilization time)가 길어져서 수 초 이상이 걸린다고 생각 된다.

결 론

흰쥐에서의 유해 열자극으로 유발된 TFR는 1941년 D'Amour와 Smith이래로 morphine등의 진통효과 판정에 널리 쓰여왔으나 MOR에 의해 TFR의 잠복기가 수 초이상이 길어지는 데에 대한 그 기전에 대하여는 거의 알려진 바가 없다. 본 연구에서는 흰쥐에 전기자극을 가하여 TFR를 유발한 후 MOR에 의해 잠복기가 변화하는 것을 관찰하고 잠복기의 증가가 반사궁의 어느 수준에서 일어나는 가를 전기생리학적인 방법으로 추적하여 흰쥐에서의 tail flick latency에 대한 MOR의 기전을 규명하고자 하였다.

꼬리피하와 말초 감각신경을 전기자극 하면서 tail flick에 관여하는 근육에서 근전도를 기록하였고, projector lamp로 꼬리에 유해 열자극을 가하고 수축장력을 기록하면서 진통제인 morphine을 정맥투여하여 회피반사의 잠복기와 말초신경의 전도속도의 변화를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 꼬리피하를 전기자극시 구심신경의 전도속도는 10~25 m/s로 A- δ 섬유들이었고 잠복기는 20~30 ms으로 MOR에의해 수 ms 정도가 증가하였다.

2) 꼬리피하를 전기자극시 구심신경의 전도속도는 MOR에 의해 유의하게 감소하여 구심정보가 척수까지 도달하는 시간은 유의하게 증가한반면 척수와 운동신경과 효과기에서 걸리는 시간은 MOR에 의해 유의한 영향을 받지 않았다.

3) 40°C의 꼬리혈관 확장상태에서의 전기자극시 구심신경의 전도속도는 시간이 경과함에 따라 증가하였고, 이런 상태에서 MOR을 처치하였을 때는 전도속도의 증가는 덜하였다. 그러나 실온에서 전

기자극시 MOR투여후 전도속도가 유의하게 감소하였다.

4) 꼬리에 유해 열자극을 가하고 회피반사가 일어나기까지의 잠복기는 대조상태 2~3초에서 MOR투여후 9~10초로 증가하였다.

이상의 결과로 흰쥐꼬리에 있어서의 전기자극 유발에 의한 TFR의 잠복기가 MOR에 의하여 수 ms 증가를 보이는 것은 MOR이 혈관운동에 그 영향을 줌으로써 구심신경의 전도속도가 감소하여 회피반사의 잠복기가 증가하였으며, 유해 열자극에 의해 유발된 회피반사에서 MOR에 의해 잠복기가 수 초 이상의 증가를 보이는 것은 MOR이 역시 혈관운동(즉 축소)에 영향을 주어 열자극에 대한 피부의 열절연도가 높아짐으로써 이용시 (utilization time)가 길어진 것에 기인한다고 생각할 수 있다.

REFERENCES

Brink EE & Pfaff DW (1980). Vertebral muscles of the back and tail of the albino rat (*Rattus norvegicus albinus*). *Brain Behav Evol* 17, 1-47

Broom F, Ségel D, Ling N & Guillemin R (1976). Endorphins: profound behavioral effects in rats suggest new etiological factors in mental illness. *Science* 194, 630-632

Cargill CL, Steinman JL & Willis WD (1985). A fictive tail flick reflex in the rat. *Brain Res* 345, 45-53

D'Amour FE & Smith DL (1941). A method for determining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Therap* 72, 74-79

Duggal KN & Barasi S (1985). Electrical stimulation of the substantia nigra does not increase tail-flick latency in the rat. *Exp neurol* 87, 300-308

Giesler GJ, Menetrey D, Guilbaud G & Besson JM (1976). Lumbar cord neurons at the origin of the spinothalamic tract in the rat. *Brain Res* 118, 320-324

Grossman ML, Basbaum AI & Fields HL (1982). Afferent and efferent connections of the rat tail flick reflex (A model used to analyze pain control mechanisms). *J Comp Neurol* 206, 9-16

Holaday JW, Loh HH & Li CH (1978). Unique behavioral effects of beta-endorphin and their relationship to

- thermoregulation and hypothalamic function. *Life Sci* 22, 1525-1536
- Irwin S, Hunde RW, Bennett DR, Hendershot LC & Seevers MH (1951). The effects of morphine, methadone and meperidine on some reflex responses of spinal animals to nociceptive stimulation. *J Pharmacol Exp Ther* 101, 132-143
- Levine JD, Murphy DT, Seidenwurm D, Cortez A & Fields HL (1980). A study of the quantal (all-or-none) change in reflex latency produced by opiate analgesics. *Brain Res* 201, 129-141
- Levine JD, Lane SR, Gordon NC & Fields HL (1982). A spinal opioid synapse mediates the interaction of spinal and brain stem sites in MOR analgesia. *Brain Res* 236, 85-91
- Mitchell D & Hellon RF. Neuronal and behavioural responses in rats during noxious stimulation of the tail. *Proc Royal Soc Lond B* 197, 169-194
- Necker R and Hellon RF (1978). Noxious thermal input from the rat tail: modulation by descending inhibitory influences. *Pain* 4, 231-242
- Ness TJ & Gebhart GF (1986). Centrifugal modulation of the rat tail flick reflex evoked by graded noxious heating of the tail. *Brain Res* 386, 41-52
- Sandkuhler J & Gebhart GF (1984). Characterization of inhibition of a spinal nociceptive reflex by stimulation medially and laterally in the midbrain and medulla in the pentobarbital-anesthetized rat. *Brain Res* 305, 67-76
- Tseng LF, Loh HH & Li CH (1977). Human β -endorphin: development of tolerance and behavioral activity in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 74, 390-396
- Vanegas H, Barbaro NM & Fields HL (1984). Tail-flick related activity in medullospinal neurons. *Brain Res* 321, 135-141
- Willis WD & Coggeshall RE (1978). *Sensory Mechanisms of the Spinal Cord*. New York, Plenum Press
- Yoburn BC, Cohen A, Umans JG, Ling GF & Intrisi CE (1985). The graded and quantal natures of opioid analgesia in the rat tail-flick assay. *Brain Res* 331, 327-336