

# Capsaicin이 연수후각의 흥분성 아미노산 전달물질에 미치는 영향\*

서울대학교 치과대학 치과보존학교실  
권수경 · 윤수한 · 이종흔

## 목 차

- I. 서 론
- II. 실험재료 및 방법
- III. 실험 성적
- IV. 고 찰
- V. 결 론
- 참고문헌
- 영문초록

분성 신경전달물질로 작용하는 glutamate, aspartate와 substance P, calcitonin-gene related peptide(CGRP)등과 같은 물질이 존재하며, gamma-aminobutyric acid(GABA), glycine 및 enkephalin을 신경전달물질로하는 신경세포들이 분포하여 시냅스전- 혹은 시냅스 후-억제기전을 통해 연수후각에서의 동통성 흥분전달을 조절할 것으로 생각하고 있으나<sup>2)</sup> 연수후각에서의 이러한 신경전달물질의 작용과 유리기전 및 계재뉴론의 역할에 대해서는 많은 연구가 이루어진 바가 없다.

## I. 서 론

연수후각과 공통점을 가지고 있는 척수후각에서 흥분성 아미노산의 유리와 작용기전 및 substance P와 같은 다른 신경전달물질과의 관계를 연구한 보고를 살펴보면, Foldes<sup>3)</sup>는 glutamate, aspartate 및 substance P는 동통전달로에서 흥분성 신경전달물질로 작용하며, glutamate 또는 substance P를 함유하는 신경세포의 말단이 척수후각 표층부에 분포한다고 하였고<sup>3)</sup>, Agrawal과 Evans<sup>4)</sup>는 1차 구심신경인 C-신경은 중추말단에서 유리되는 glutamate에 의해 활성화되는 감수체를 가지고 있다고 하였으며, substance P는 주로 C-

악안면 영역에서 유해자극에 반응하는 일차 구심신경은 악안면 동통의 주요 중계핵 역할을 하고 있는 삼차신경 연수후각(medullary dorsal horn; 삼차신경 척수감각핵 미측소핵)에서 시냅스를 형성하며, 연수후각에는 다양한 물질을 신경전달물질로 이용하는 신경세포들이 분포하고 있다. 연수후각은 기능적으로나 형태학적으로 척수후각과 매우 유사한 특성을 가지고 있으며<sup>1)</sup>, 척수후각과 같이 연수후각의 유해 감수체의 일차구심신경섬유의 중추말단에는 흥

\*본 연구는 1993년도 서울대학교병원 지정연구비에 의하여 이루어진 것임.

신경섬유의 흥분전달물질로 작용하고 glutamate와 aspartate는 A- $\delta$ 신경섬유의 신경 흥분전달물질로 작용한다고 알려져 있다<sup>6</sup>. 그러나 흥분성 아미노산 신경전달물질과 substance P를 면역조직화학적으로 관찰한 바, 동일한 구심신경 말단에 두 물질들이 동시에 존재하며<sup>7, 8</sup>, glutamate는 척수후각에서 CGRP와도 동일한 신경말단에 분포하고 있고<sup>4</sup>, 기능적으로도 매우 긴밀하여 신경말단에서 동시에 유리되며<sup>7</sup>, 서로의 작용을 강화하는 작용을 나타내어 동통을 증가시키는 효과를 나타낸다고 한다<sup>9</sup>. 그리고 Randic등<sup>10</sup>은 substance P가 glutamate의 중계에 의한 흥분전달을 조절한다고 보고하였고, Sluka등<sup>11</sup>은 급성 관절염에서 substance P, CGRP, glutamate 등이 관절 운동시의 통증을 중계하는데 중요한 역할을 한다고 하였으며, Murase등<sup>12</sup>은 척수후각에서 glutamate감수체 작용약물의 효과가 CGRP 등에 의해 영향받음을 보고하였다. 이러한 척수후각에서의 흥분성 아미노산 흥분전달물질과 peptide성 흥분전달물질의 기능적 긴밀성이 많이 보고된 것에 비해 악안면 동통을 중계하는 연수후각에 대한 연구는 최근 Yoon등<sup>13</sup>과 Shin<sup>14</sup>이 연수후각 박편에서 신경세포 활성화에 미치는 흥분성 아미노산 흥분전달물질의 영향을 보고한 바 있다.

고추등에서 추출되는 capsaicin은 전신적 혹은 국소적으로 작용시키면 초기에는 유해성 감수체를 자극하여 통증을 유발하지만 이어서 진통효과를 나타내는 물질이다. Capsaicin은 국소적으로 C-신경섬유의 흥분전달을 억제할 뿐만 아니라<sup>15-17</sup>, 척수후각의 1차 구심신경의 말단에서 substance P의 유리를 촉진시켜 고갈시키고<sup>18-21</sup>, 신생동물에 투여하면 선택적으로 C-신경세포의 수를 감소시키는 작용을 가진다<sup>22, 23</sup>. Capsaicin은 적출 척수후각 박편에서 흥분성 아미노산 신경전달물질의 유리를 촉진시키고<sup>24</sup>, 척수-시상로 신경세포의 glutamate, aspartate에 대한 반응을 증가시키며<sup>25</sup>, substance P와 CGRP는 내재성 glutamate와

aspartate의 유리를 촉진시킨다고 한다<sup>26, 27</sup>. 그러나 Donnerer<sup>28</sup>와 Kangrga 및 Randic<sup>29</sup>은 capsaicin이 glutamate와 aspartate의 유리에 영향을 주지 않는다는 상반된 보고를 하고 있다. Capsaicin이 가지는 상기 효과는 길항물질인 ruthenium red에 의해 차단되며<sup>30, 31</sup>, ruthenium red는 capsaicin에 의해 활성화되는 이온통로를 차단함으로써 capsaicin의 작용을 차단하고<sup>32, 33</sup>, 신경조직에서 칼슘이동을 차단함으로써 capsaicin에 의한 substance P 유리를 억제한다고 한다<sup>34</sup>.

저자는 악안면 동통의 중계핵 역할을 하는 연수후각 박편에서 흥분성 아미노산 신경전달물질과 peptide성 신경전달물질의 상호관계를 연구하기 위하여 capsaicin과 capsaicin길항제가 흥분성 신경전달물질의 유리에 미치는 영향을 관찰하여 다소의 지견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

## II. 실험 재료 및 방법

### 1. 연수후각 박편의 제작과 전배양

생후 4~5주의 Sprague-Dawley계 흰쥐(서울대학교 동물실)를 ether로 경마취하고 희생시킨 후 뇌간 후반부와 경수 상부를 절제하였다. 절제한 뇌조직은 95% 산소와 5% 이산화탄소로 포화시킨 Krebs-Ringer용액(NaCl, 124; KCl, 5; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.2; CaCl<sub>2</sub>, 2.4; MgSO<sub>4</sub>, 1.3; NaHCO<sub>3</sub>, 26; Glucose, 10; 단위 - mM, pH 7.4)에 옮기고 뇌연막을 제거하였다. Vibratome(Cambridge회사)을 이용하여 표면에서 500  $\mu$ m의 두께로 obex후방 5mm까지 수평박편을 제작하였으며, 위의 전 과정이 20분을 경과하지 않도록 하였다. 제작된 연수후각 박편은 Brain slice chamber(Medical System 회사)에 옮기고 95% 산소와 5%이산화탄소로 포화시킨 32 $\pm$ 1  $^{\circ}$ C의 Krebs-Ringer용액을 관류시키면서(관류속도: 1ml/min) 1시간 동안 전배양 하였다.

## 2. 흥분성 아미노산 신경전달물질 측정을 위한 연수후각 박편 배양액의 수집

연수후각 박편에서 유리되는 흥분성 아미노산 신경전달물질의 변화를 측정하기 위하여 전배양한 연수박편을 변형 Krebs-Ringer 용액(NaCl, 127; KCl, 1.9; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.2; CaCl<sub>2</sub>, 2.4; MgSO<sub>4</sub>, 1.3; NaHCO<sub>3</sub>, 26; Glucose, 10; 단위 - mM; pH, 7.4; 관류속도, 1ml/min)로 배양하였다. 전배양 후 변형 Krebs-Ringer 용액을 실험용액으로 적용시켰다.

연수박편의 세포가 배양액에 적응된 후 아미노산 신경전달물질의 자발적 유리를 측정하기 위해 10분간의 배양액을 대조군 용액으로 수집하였으며, veratrine에 의해 유발된 유리량의 변화를 관찰하기 위해 15mg/L의 veratrine (Sigma 회사)이 함유된 배양액으로 관류시키면서 10분간 배양액을 수집하였다. 30분 이상 Krebs-Ringer 용액으로 다시 회복시킨 뒤 위의 방법으로 반복 시행하여 유리량 변화를 비교하였다. 그리고 capsaicin이 흥분성 신경전달물질인 glutamate와 aspartate의 유리에 미치는 효과를 관찰하기 위해 이 약물들을 대조 배양시와 veratrine 자극 배양시 배양액에 첨가하였다. 사용한 capsaicin(Sigma Co.)은 ethanol(Merck Co.), Tween-80(Sigma Co.) 및 생리 식염수가 부피비로 10 : 10 : 80으로 구성된 vehicle에 녹여서 최종약물의 농도가 10 $\mu$ M이 되도록 하였고, 이때의 ethanol과 Tween-80의 농도는 각각 0.05% 이하가 되도록 하였다. 또한 vehicle에 의한 영향을 확인하기 위하여 vehicle만 첨가한 경우도 실험하였다. 모아진 배양액은 즉시 -70 $^{\circ}$ C의 냉동고에서 얼린 후, 동결건조하여 시료를 분석할 때까지 -70 $^{\circ}$ C의 냉동고에 보관하였다.

## 3. 삼차신경 연수후각 표본의 준비

capsaicin이 삼차신경 연수후각의 흥분성 아미노산 신경전달물질의 함량에 미치는 영향을 관찰하기 위하여는 서울대학교 동물실에서 사육한 체중 200g내외의 Sprague-Dawley계

흰쥐를 사료와 물을 자유롭게 공급하면서 낮과 밤이 12시간 간격으로 바뀌고, 오전 7시에 밝아지는 동물실에서 최소한 72시간동안 사육한 뒤 실험에 사용하였다. 실험동물들을 대조군, vehicle 투여군, capsaicin 투여군, ruthenium red 투여군 및 capsaicin과 ruthenium red 복합 투여군으로 나누었다. Capsaicin은 ethanol, Tween-80 및 생리 식염수가 부피비로 10 : 10 : 80으로 구성된 vehicle에 녹여서 최종 약물의 농도가 50mg/ml가 되도록 준비하여 chloroform으로 마취한 뒤 첫날 50mg/kg, 둘째날 100mg/kg의 용량으로 피하주사하였으며, ruthenium red (Sigma Co.)와 복합 투여한 경우에는 생리식염수에 5mg/ml가 되도록 녹인 용액을 5mg/kg의 용량으로 capsaicin 주사 30분전에 피하주사하였다. Vehicle 투여군의 경우에는 capsaicin을 용해하는데 사용한 vehicle을 동일량으로 피하주사하였고, ruthenium red 단독 투여군에서도 5mg/kg의 용량으로 피하주사하였다. 마지막으로 약물을 주사한지 24시간 후에 chloroform으로 마취한 후 단두로 희생시켜 즉시 뇌를 적출한 후 obex를 기준으로 미측 5mm를 분리하여 액체질소에 급냉시킨 뒤 -70 $^{\circ}$ C의 냉동고에 보관하였다. 뇌조직의 습중량을 측정하고, 얼음으로 차게 식힌 2N acetic acid 3ml와 함께 분쇄하고, 초음파로 30초간 균질화하여 20,000 x g로 30분간 원침한 후, 상청액을 동결건조하여 시료를 분석할 때 까지 -70 $^{\circ}$ C의 냉동고에 보관하였다.

## 4. 흥분성 아미노산 신경전달물질의 분리와 분석

아미노산 신경전달물질의 분리와 분석은 solvent delivery system(model 6000A), universal liquid chromatograph injector(model U6K), data module (model 730)로 구성된 고성능 액체 크로마토그래피 시스템(HPLC, Waters사, Milford, 미국)을 이용하였다. 분석시의 HPLC 조건은 압력 약 1200psi, 유량 1ml/min, chart speed 0.3cm/min, 시료

주입량은 100 $\mu$ l이었으며,  $\mu$ Bondapak C18 column(평균입자크기 10 $\mu$ m, 내경 3.9mm  $\times$  300mm)을 고정상으로 이용하였다. 이동상은 15%(v/v) acetonitrile(Merck회사)이 함유된 30mM 나트륨-인산 완충액(pH, 6.5)을 사용하였으며, 사용직전에 여과한 후 진공펌프로 10분간 공기를 제거하였다. 아미노산 신경전달물질의 정량은 시료를 주입하기 전에 Tauphi 등<sup>35)</sup>의 방법을 이용하여 dansylation을 시행한 뒤 자외선 흡광분석기(Model 441, Waters사, Milford, 미국)를 이용하여 파장 254nm, operation sensitivity 0.01AUFS에서 측정하였다. Peaks의 확인은 용출시간과 standard

coaddition 방법으로 확인하였으며, 아미노산 신경전달물질의 정량은 external standard quantification법으로 측정하였다.

### III. 실험 성적

#### 1. 연수후각 신경세포의 Glutamate와 Aspartate의 유리에 대한 veratrine의 효과

연수후각 박편에서 자발적으로 유리되는 glutamate와 aspartate의 양은 각각 863.1 $\pm$  216.6과 473.5 $\pm$ 67.8pM/slice로 고성능 액체

Table 1. Spontaneous and veratrine(15mg/L) stimulated release of aspartate and glutamate from medullary dorsal horn slices during perfusion of modified Krebs-Ringer solution

Amino Acid	Amounts(pM/slice)	
	Spontaneous Release	Veratrine Stimulated Release
Aspartate	473.5 $\pm$ 67.8	655.7 $\pm$ 110.2
Glutamate	863.1 $\pm$ 216.6	1021.0 $\pm$ 236.5

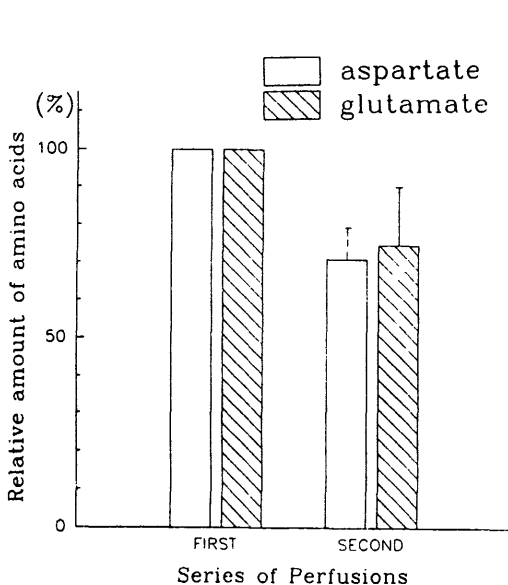


Fig 1. Changes of spontaneous release of amino acids from medullary dorsal horn slices of rat

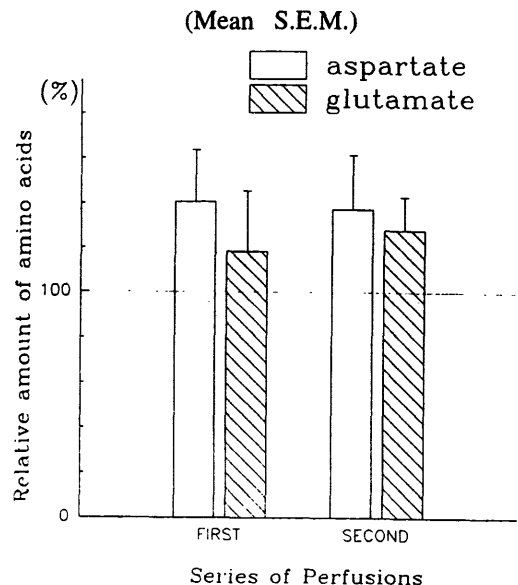


Fig 2. Effects of veratrine(15mg/L) Stimulation on the release of amino acids from medullary dorsal horn slices of rat

크로마토그래피로 측정할 수 있을 만큼 충분하였으며, 연속적으로 반복 배양한 경우 2차 배양시에 자발적으로 분비되는 두 아미노산 신경전달물질의 양은 1차 배양시에 비해 감소하였으나 박편을 연속하여 실험에 사용할 수 있을 만큼 활성도가 유지되었다(Fig. 1). Veratrine으로 자극한 경우 두 아미노산 신경전달물질의 유리량은 현저히 증가하여 glutamate는  $1021.0 \pm 236.5 \text{ pM/slice}$ 로 평균 약 120%, aspartate는  $655.7 \pm 110.2 \text{ pM/slice}$ 로 평균 약 140% 정도 각각 증가하였으며(Table 1). 2차 배양시에도 veratrine에 의한 분비증가율은 1차 배양시와 유사한 경향을 보여(Fig. 2), 반복 배양으로 인한 자극 유리량의 변화율은 유의한 차이를 보이지 않았다.

## 2. 연수후각 신경세포의 Glutamate와 Aspartate의 유리에 대한 capsaicin의 효과

연수후각 박편에서 자발적으로 유리되는 glutamate와 aspartate의 양은 ethanol과 Tween-80이 함유된 vehicle만을 관류액에 첨

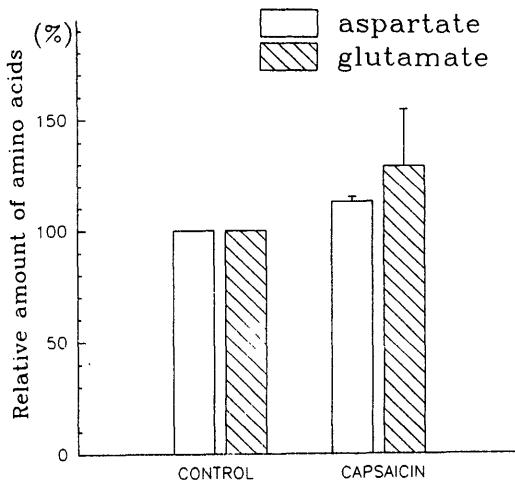


Fig 3. Effects of capsaicin on the spontaneous release of amino acids from medullary dorsal horn slices of rat. Vertical bars mean S.E.M. of determinations.

가하는 경우 변화가 없었지만, capsaicin을  $10 \mu\text{M}$ 의 농도로 관류액에 첨가한 경우 두 물질의 유리량은 현저히 증가하였으며, 그 증가량은 대조군에 비하여 glutamate의 경우  $128.7 \pm 25.5\%$ 이고 aspartate의 경우  $112.8 \pm 2.3\%$ 로 glutamate에서 더욱 뚜렷하게 나타났다(Fig. 3). 그러나 veratrine으로 자극한 경우 vehicle만 첨가한 실험에서는 뚜렷한 glutamate와 aspartate의 유리 증가 양상이 관찰된 반면에 capsaicin이 첨가된 경우에는 glutamate와 aspartate의 유리량이 각각 capsaicin만 첨가한 경우의  $94.1 \pm 8.1\%$  및  $89.5 \pm 6.7\%$ 로 veratrine에 의한 자극효과를 추가적으로 관찰할 수는 없었다(Fig. 4).

## 3. 연수의 Glutamate와 Aspartate 할량에 대한 capsaicin의 효과

연수에 함유된 흥분성 아미노산 신경전달물질의 양은 glutamate는  $4.30 \pm 0.40 \mu\text{M/g}$ , aspartate는  $2.27 \pm 0.41 \mu\text{M/g}$ 로 다른 뇌조직에 함유되어있는 양과 비슷한 값을 나타내었으며 ethanol과 Tween-80이 포함된 vehicle을

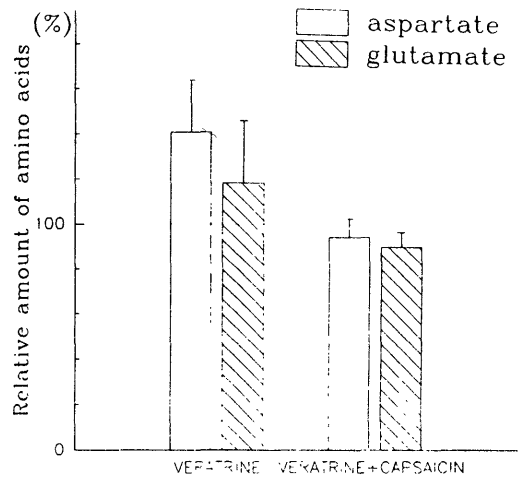


Fig 4. Effects of capsaicin on the veratrine stimulated release of amino acids from medullary dorsal horn slices of rat. Vertical bars mean S.E.M. of determinations.

투여한 경우에는 다소 감소하여 각각  $3.85 \pm 0.46 \mu\text{M/g}$  및  $1.94 \pm 0.15 \mu\text{M/g}$ 의 함량을 보였으나 이 변화는 유의하지 않았다. Capsaicin을 전신적으로 이틀에 걸쳐서 투여한 경우에도 glutamate는  $3.90 \pm 0.89 \mu\text{M/g}$ , aspartate는  $2.15 \pm 0.46 \mu\text{M/g}$ 로 흥분성 아미노산 신경전달물질이 다소 감소하는 경향을 보였으나 vehicle만을 투여한 경우와 비교하여 유의한 차이를 나타내지 않았다(Table 2, Fig. 5). 양전하를 띠고 있는 염료의 일종인 ruthenium red를 투여한 경우 염료 자체의 전신적인 독성으로 인하여 위상성인 경련이 일부 동물에서 관찰되었으며, 본 실험에서 사용한 용량에서도

실험동물을 치사케하는 경우도 발견되었다. 그러나 ruthenium red만을 단독으로 투여한 경우 glutamate의 함량은  $4.16 \pm 0.25 \mu\text{M/g}$ , aspartate함량은  $2.11 \pm 0.21 \mu\text{M/g}$ 로 실험 동물의 뇌간 내 흥분성 아미노산 신경전달물질의 함량에는 영향을 주지 못하였다. 한편 capsaicin을 투여하기 30분 전에 ruthenium red를 투여한 경우에는 glutamate는  $3.99 \pm 0.25 \mu\text{M/g}$ , aspartate는  $2.06 \pm 0.13 \mu\text{M/g}$ 의 함량을 나타내어, capsaicin 혹은 ruthenium red만을 투여한 경우와 비교하여 유의한 차이를 발견할 수 없었다(Table 2, Fig. 6).

Table 2. Effects of capsaicin and ruthenium red on the contents of excitatory amino acid neurotransmitters in medulla oblongata

Amino Acid	Amounts ( $\mu\text{M/g}$ wet tissue)				
	control	vehicle	ruthenium red	capsaicin	ruthenium red + capsaicin
Aspartate	$2.27 \pm 0.41$	$1.94 \pm 0.15$	$2.11 \pm 0.21$	$2.15 \pm 0.46$	$2.06 \pm 0.13$
Glutamate	$4.30 \pm 0.40$	$3.85 \pm 0.46$	$4.16 \pm 0.25$	$3.90 \pm 0.89$	$3.99 \pm 0.25$

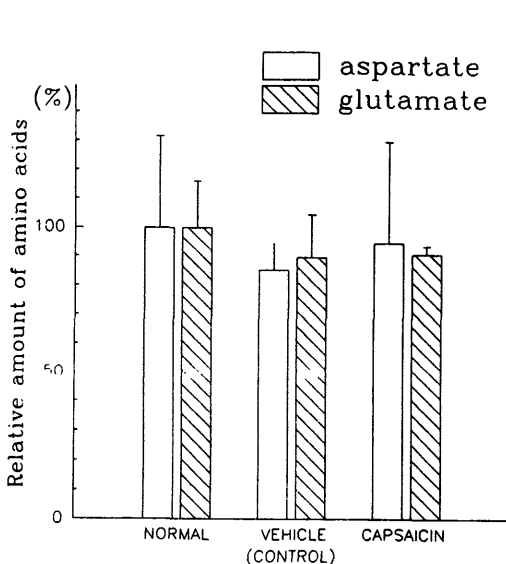


Fig 5. Effects of capsaicin on the contents of amino acids in medulla oblongata of rat

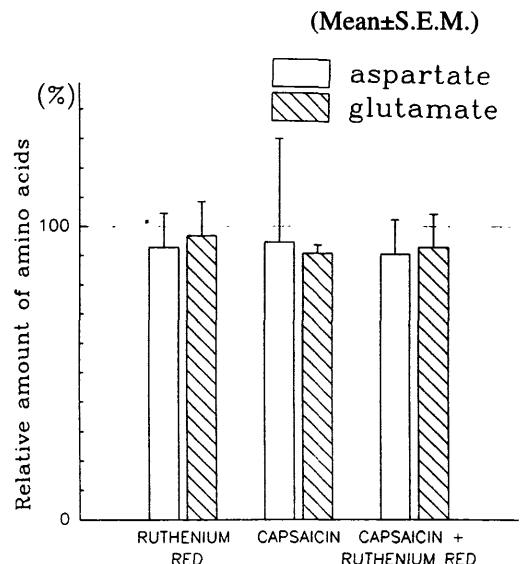


Fig 6. Effects of ruthenium red pretreatment on amino acid contents of medulla oblongata of rat

#### IV. 고 찰

척수후각이나 연수후각에 종지하는 동통의 일차 구심신경의 중추단에 존재하면서 이 부위에서의 신경 흥분전달과 이의 조절에 작용하는 물질로 glutamate와 aspartate, 그리고 substance P가 작용한다는 사실이 알려졌다<sup>36-38)</sup>, 연수후각에는 다양한 물질을 신경전달 물질로 이용하는 많은 종류의 신경들이 존재하여 동통성 흥분전달에 영향을 주고 있다<sup>2)</sup>. 중추신경계에 존재하는 대표적인 아미노산 신경전달물질로 glutamate와 aspartate가 알려져 있으며, 시냅스전 혹은 시냅스후 신경에 존재하는 흥분성 아미노산 감수체에 작용하여 흥분성 전달물질로 작용한다<sup>39)</sup>. 중추단에서 glutamate와 aspartate를 분비하는 신경들이 척수후각이나 연수후각의 표층부에 분포하며<sup>6)</sup>, substance P가 1차 감각구심 신경세포와 척수의 표층부에 있는 1차 구심로 말단에 이들과 같이 존재하고 있다<sup>4, 7, 8)</sup>. Glutamate와 aspartate의 유리는 여러 인자에 의해 조절되는 바, substance P와 calcitonin gene-related peptide도 이들의 유리에 영향을 주며<sup>26, 29)</sup>, substance P단독으로도 척수후각 신경세포에 대한 glutamate의 작용에 영향을 끼친다는 사실이 알려져 있고<sup>9, 10, 26)</sup>, 동통을 전달하는 구심신경에서 substance P를 고갈시키는 작용이 있는 capsaicin도 흥분성 아미노산 신경전달물질의 유리에 영향을 주고 있어<sup>24, 27, 29)</sup> 흥분성 아미노산 신경 흥분전달물질과 substance P가 동통성 신경 흥분전달에 기능적으로 매우 밀접한 관계를 가짐을 알 수 있다.

악안면 영역의 통각전도에 중계핵 역할을 하는 삼차신경 척수 감각핵 미축소핵은 구조적으로나 기능적으로 척수후각과 유사하기 때문에 연수후각이라 하며<sup>1)</sup>, 이 부위에는 다양한 기능을 가진 계재뉴런이 분포해 있다. 통각전도에 관련된 신경의 흥분전달물질로 substance P, enkephalin, Cholecystokinin, GABA, Vasoactive Intestinal Peptide, 아미노산등이 작용할 것이라는 가능성을 제시한 바 있으나<sup>2)</sup> 이런 신경전달물질의 작용기전과 상호작용 그리고 신경전달

물질의 유리에 대한 뇌조직 박편을 이용한 연구는 최근에야 보고되고 있는 바, Yoon 등<sup>13)</sup>은 glutamate와 aspartate가 연수후각 신경세포의 막전위를 탈분극 시키고 세포막저항을 낮추며, substance P도 같은 결과를 보였다고 보고하였고, Shin 등<sup>14)</sup>은 GABA 감수체에 작용하는 물질이 시냅스전 억제기전을 통해 glutamate와 aspartate의 유리를 억제한다고 하였다. 그리고 척수박편에서 전기자극을 하는 경우 glutamate와 aspartate의 유리가 증가하는데 그 효과는 배양액에서  $Ca^{++}$  을 제거하면 없어지지만, substance P나 CGRP등은  $Ca^{++}$ 의 존재와 상관 없이 유리가 증가한다는 보고가 있는 것으로 보아 일차 구심신경의 탈분극에 의한 칼슘의 유입이라기 보다는 이차 중계자계에 의해 중계된 것으로 보고하였다<sup>29)</sup>.

나리과 식물에서 추출되는 veratrine은  $Na^{+}$  통로를 열어주어 탈분극을 일으키는 신경독성물질의 하나로<sup>40)</sup>, 이 물질을 척수박편이나 연수후각에 투여하는 경우 glutamate와 aspartate의 유리량이 증가하는 것으로 알려져 있고<sup>14, 24, 28)</sup>, 고농도의 포타슘 용액과 같이 신경전달물질 유리 실험에 이용되고 있다.

본 실험에서 Krebs-Ringer 변형 용액으로 관류하면서 유리되는 흥분성 아미노산 유리를 측정할 결과 veratrine에 의해 그 유리가 현저히 증가하였으며, 이런 실험 결과는 흥분성 아미노산이 연수후각에서 신경전달물질로 작용한다는 다른 보고<sup>36-39)</sup>들과 상응하는 것으로 보인다.

Capsaicin은 적용 초기에는 유해성 감수체를 자극하여 통증을 유발하지만 이어서 진통효과를 나타내는 물질로써, 국소적으로 C-신경섬유의 흥분전달을 선택적으로 억제할 뿐만 아니라<sup>15-17)</sup>, 척수후각에서 1차 구심신경의 말단에서 substance P의 유리를 촉진시켜 고갈시키고<sup>18-21)</sup>, 신생동물에 투여하면 선택적으로 C-신경세포의 수를 감소시키는 작용을 가진다<sup>22, 23)</sup>. Capsaicin이 흥분성 아미노산 신경전달물질 유리에 영향을 미치는 substance P나 CGRP에 영향을 주기때문에 capsaicin도 glutamate나 aspartate의 유리에 영향을 줄 수 있으나 그 효

과에 대해서는 상반된 보고가 있다. Capsaicin은 적출 척수후각 박편에서 흥분성 아미노산 신경전달물질의 유리를 촉진시키고<sup>24)</sup>, 척수-시상로 신경세포의 glutamate, aspartate에 대한 반응을 증가시킨다고 하였으나<sup>25)</sup>, 신생동물에게 capsaicin을 투여할 경우 흥분성 아미노산의 내재성 기초유리에는 영향이 없으나 substance P와 CGRP에 의한 흥분성 아미노산 유리는 일어나지 않는다고<sup>26, 29)</sup> 하였고, Donnerer<sup>28)</sup>도 capsaicin에 의해 C-신경섬유가 손상을 받아도 K<sup>+</sup>에 의한 탈분극이나 veratrine에 의한 glutamate와 aspartate의 유리에 영향을 주지 않는다는 보고를 하고 있다. Capsaicin이 가지는 상기 효과는 길항물질인 ruthenium red에 의해 차단되며<sup>30, 31)</sup> ruthenium red는 capsaicin에 의해 활성화되는 이온통로를 차단함으로써 capsaicin의 작용을 차단하고<sup>32, 33)</sup>, 신경조직에서 칼슘이동을 차단함으로써 capsaicin에 의한 substance P 유리를 억제한다고 한다<sup>34)</sup>. 본 실험에서도 관류용액에 capsaicin을 투여할 경우에도 glutamate와 aspartate의 유리가 증가하여 capsaicin에 의해 유리가 촉진된 substance P가 이에 영향을 미치지 않았나 생각된다.

생체내에 전신적으로 capsaicin을 투여한 경우 연수후각내의 glutamate나 aspartate의 함량은 감소하였으며, 이 효과는 capsaicin의 길항제인 ruthenium red에 의해 차단되는 것으로 보아 substance P와 glutamate를 동시에 가지고 있는 신경섬유 말단이 capsaicin에 의해 손상받음으로써 신경말단내의 glutamate 대사장애가 일어나게 되고 이러한 결과로 조직의 흥분성 아미노산 함량이 감소한 것으로 추측된다.

## V. 결론

악안면 동통의 증계핵 역할을 하는 연수후각 박편에서 흥분성 아미노산 신경전달물질과 peptide성 신경전달물질의 상호관계를 연구하기 위하여 capsaicin과 capsaicin길항제가 흥분성 아미노산 신경전달물질의 유리에 미치는 영향을 관찰하고자 생후 약 4주되는 흰쥐의 연

수후각 박편을 제작하여 brain slice chamber내에서 변형된 Krebs-Ringer용액으로 관류하면서 veratrine 또는 capsaicin에 의한 glutamate와 aspartate의 유리량 변화를 관찰하였고, 실험동물에게 전신적으로 capsaicin을 단독 혹은 capsaicin길항제인 ruthenium red를 동시에 투여하여 연수후각내의 glutamate 및 aspartate의 함량을 고성능 액체크로마토그래피로 측정된 결과 veratrine은 glutamate와 aspartate의 유리를 현저히 증가시켰으며, capsaicin은 자발적인 glutamate와 aspartate의 유리량은 증가시키는 반면에 veratrine에 의한 자극효과는 완전히 차단하였다. 전신적으로 투여된 capsaicin은 연수후각내의 glutamate 및 aspartate함량을 저하시키는 경향을 보였으나 vehicle만을 투여한 경우와 차이가 없었고, 길항제인 ruthenium red를 전처리한 경우에도 이런 양상은 변화하지 않았다.

## References

1. Gobel, S., Hockfield, S. and Ruda, M.A. : Anatomical similarities between medullary and spinal dorsal horns. *In: Oral-facial sensory and motor functions.* Kawamura, Y and R.Dubner, Eds, pp. 211-223, Quin-tessence, Tokyo, 1981.
2. Sessle, B.J. : The neurobiology of facial and dental pain: present knowledge, future directions. *J. Dent. Res.* 66:962, 1987.
3. Foldes, F.F. : Pain control with intrathecally and peridurally administered opioids and other drugs. *Anesthesiol. Reanim.* 16:287, 1991
4. Merighi, A., Polak, J.M. and Theodosis, D.T.: Ultrastructural visualization of glutamate and aspartate immunoreactivities in the rat dorsal horn, with special reference to the colocalization of glutamate, substance P and calciton-



- ingene related peptide. *Neuroscience*. 40: 67-80, 1991.
5. Agrawal, S.G. and Evans, R.H. : The primary afferent depolarizing action of kainate in the rat. *Br. J. Pharmacol.* 87: 345, 1986.
  6. Jessell, T.M. and Kelly, D.D. : Pain and analgesia. *In: Principles of neural science*, 3rd Edi., pp. 385, edited by Kandel, E., Schwartz, J.H. and Jessell, T.M., Elsevier, New York, 1991.
  7. DeBiasi, S. and Rustioni, A. : Glutamate and substance P coexist in primary afferent terminals in the superficial laminae of spinal cord. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:7820, 1988.
  8. DeBiasi, S. and Rustioni, A. : Ultrastructural immunocytochemical localization of excitatory amino acids in the somatosensory system. *J. Histochem. Cytochem.* 38:1745, 1990.
  9. Mjelle Joly, N., Lund, A., Berge, O.G. and Hole, K. : Potentiation of a behavioural response in mice by spinal coadministration of substance P and excitatory amino acid agonists. *Neurosci. Lett.* 133:121, 1991.
  10. Randic, M., Hecimovic, H. and Ryu, P.D. Substance P modulates glutamate-induced currents in acutely isolated rat spinal dorsal horn neurones. *Neurosci. Lett.* 117:74-80, 1990.
  11. Sluka, K.A., Dougherty, P.M., Sorkin, L.S., Willis, W.D. and Westlund, K.N. : Neural changes in acute arthritis in monkeys. III. Changes in substance P, calcitonin gene-related peptide and glutamate in the dorsal horn of the spinal cord. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 17:29, 1992.
  12. Murase, K., Ryu, P.D. and Randic, M. : Excitatory and inhibitory amino acids and peptide-induced responses in acutely isolated rat spinal dorsal horn neurons. *Neurosci. Lett.* 103:56, 1989.
  13. Yoon, C.S., Kim, J.S. and Lee, J.H. : Effect of excitatory amino acid on the neural activity of trigeminal spinal sensory nucleus in vitro. *Kor. J. Oral Biol.* 16:43, 1992.
  14. Shin, I.Y., Kim, J.S. and Lee, J.H. : Influences of drugs acting on GABA receptor on the release of excitatory amino acid neurotransmitters and neural activity in medullary dorsal horn. *J. Dent. Coll., S.N.U.*, 17: 223, 1993.
  15. Baranowski, R., Lynn, B. and Pini, A.: The effects of locally applied capsaicin on conduction in cutaneous nerves in four mammalian species. *Br. J. Pharmacol.* 89: 267, 1986.
  16. Wall, P.D. and Fitzgerald : Effects of capsaicin applied locally to adult peripheral nerve. I. Physiology of peripheral nerve and spinal cord. *Pain* 11: 363, 1981.
  17. Chung, J.M., Lee, K.H., Hori, Y. and Willis, W.D. : Effects of capsaicin applied to a peripheral nerve on the responses of primate spinothalamic tract cells. *Brain Res.* 329:27, 1985.
  18. Ainsworth, A., Wall, P.D., Alt, G., Ackenize, M.L., Gibson, S. and Polak, J.M. : effects of capsaicin applied locally to adult peripheral nerve. II. Anatomy and enzyme and peptide chemistry of peripheral nerve and spinal cord. *Pain* 11: 379, 1981.
  19. Miller, M.S., Buck, S.H., Sipes, I.G. and Burks, T.F. : Capsaicin-induced local and systemic antinociception without substance P depletion. *Brain Res.* 244:193, 1982.
  20. Buck, S.H., Miller, M.S. and Burks, T.F. : Depletion of primary afferent substance P

- by capsaicin and dihydrocapsaicin without altered thermal sensitivity in rats. *Brain Res.* 233:216, 1982.
21. Hua, X.Y., Saria, A., Gamse, R., Theodorsson-Norheim, E., Brodin, E. and Lundberg, J.M. : Capsaicin induced release of multiple tachykinins (substance P, Neurokinin A and eledoisin-like material) from guinea-pig spinal cord and ureter. *Neurosci.* 19:313, 1986.
  22. Nagy, J.I., Hunt, S.P., Iversen, L.L. and Emson, P.C. : Biochemical and anatomical observations on the degeneration of peptide containing primary afferent neurons after neonatal capsaicin. *Neurosci.* 6:1923, 1981.
  23. Nagy, J.I. and van der Kooy, D. : Effects of neonatal capsaicin treatment on nociceptive thresholds in the rats. *J. Neurosci.* 3:1145, 1983.
  24. Jeftinija, S., Jeftinija, K., Liu, F., Skilling, S. R., Smullin, D.H. and Larson, A.A. : Excitatory amino acids are released from rat primary afferent neurons *in vitro*. *Neurosci. Lett.* 125:191, 1991.
  25. Dougherty, P.M. and Willis, W.D. : Enhanced responses of spinothalamic tract neurons to excitatory amino acids accompany capsaicin-induced sensitization in the monkey. *J. Neurosci.* 12:883, 1992.
  26. Kangrga, I., Larew, J.S.A. and Randic, M. : The effects of substance P and calcitonin gene-related peptide on the efflux of endogenous glutamate and aspartate from the rat spinal dorsal horn *in vitro*. *Neurosci. Lett.* 108:155, 1990.
  27. Kangrga, I. and Randic, M. : Outflow of endogenous aspartate and glutamate from the rat spinal dorsal horn *in vitro* by activation of low- and high-threshold primary afferent fibers. Modulation by mu-opioids. *Brain Res.* 553:347, 1991.
  28. Donnerer, J. : Depolarization-evoked release of glutamate, aspartate and gamma-aminobutyric acid from rat dorsal spinal cord slices does not originate from capsaicin-sensitive neurons. *Brain Res.* 555:332, 1991.
  29. Kangrga, I. and Randic, M. : Tachykinins and calcitonin gene-related peptide enhance release of endogenous glutamate and aspartate from the rat spinal dorsal horn slice. *J. Neurosci.* 10:2026, 1990
  30. Amann, R. and Maggi, C.A. : Ruthenium red as a capsaicin antagonist. *Life Sci.* 49: 849, 1991.
  31. Donnerer, J., Schuligoi, R. and Amann, R. : Time-course of capsaicin-evoked release of calcitonin gene-related peptide from rat spinal cord *in vitro*. effect of concentration and modulation by ruthenium red. *Regul. Pept.* 37:27, 1992.
  32. Dray, A., Forbes, C.A. and Burgess, G.M. : Ruthenium red blocks the capsaicin-induced increase in intracellular calcium and activation of membrane currents in sensory neurones as well as the activation of peripheral nociceptors *in vitro*. *Neurosci. Lett.* 110:52, 1990.
  33. Dray, A. : Neuropharmacological mechanisms of capsaicin and related substances. *Biochem. Pharmacol.* 44:611, 1992.
  34. Maggi, C.A., Santicioli, P., Geppetti, P., Parlani, M., Astolfi, M., Pradelles, P., Patacchini, R. and Meli, A. : The antagonism induced by ruthenium red of the actions of capsaicin on the peripheral terminals of sensory neurons: further studies. *Eur. J. Pharmacol.* 154:1, 1988.
  35. Tauphi, Y., Schmidt, D.E., Lindner, W. and Karger, B.L. : Dansylation of amino acids for high-performance liquid

- chromatography analysis. *Anal. Biochem.* 115:123-129, 1981.
36. Schneider, S.P. and Perl, E.R. : Selective excitation of neurons in the mammalian spinal dorsal horn by aspartate and glutamate in vitro: correlation with location and excitatory input. *Brain Res.* 360: 339, 1985.
37. Nicoll, R.A., Schenker, C. and Leeman, S. E. : Substance P as a transmitter candidate. *Annu. Rev. Neurosci.* 3:227, 1980.
38. Kellstein, D.E., Price, D.D., Hayes, R.L. and Mayer, D.J. : Evidence that substance P selectively modulates C-fiber-evoked discharges of dorsal horn nociceptive neurons. *Brain Res.* 526:291, 1990.
39. Adelman, G. : *Encyclopedia of neuroscience*. Vol. 1, pp. 32-35, 80, 468, Birkhauser, Boston, 1987.
40. Hille, B. and Catterall, W.A. : *Electrical excitability and ionic channels*. In: *Basic neurochemistry*, 4th edi., pp. 83, edited by Siegel, G., Agranoff, B., Albers, R.W. and Molinoff, P., Raven Press, New York, 1989.

Effect of Capsaicin on the Excitatory Amino Acids  
Neurotransmitters in Medullary Dorsal Horn

Soo-Kyung Kwon · Soo-Han Yoon · Jong-Heun Lee

*Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry,  
Seoul National University*

This experiment was performed to study the effect of capsaicin on the excitatory amino acids (EAAs) neurotransmitter in medullary dorsal horn and to clarify the relationship between substance P and excitatory amino acids. Horizontal slice of rat medullary dorsal horn was prepared and perfused with modified Krebs-Ringer solution in brain slice chamber. Release of EAAs was induced by veratrine and capsaicin were added to perfusion solution to observe the changes in EAA release. Capsaicin and ruthenium red, capsaicin antagonist, were also systemically injected with 50mg/kg in first day and 100mg/kg in second day for 2 days. Medulla oblongata containing the medullary dorsal horn was isolated, homogenized and centrifused. Supernatant was freeze-dried and EAA was determined by HPLC. Release of glutamate and aspartate was significantly increased by veratrine or capsaicin, but veratrine evoked release of EAAs was blocked by capsaicin *in vitro*, and injected ruthenium red did not have effect on the contents of EAAs *in vivo*. Systemically injected capsaicin evoked the slight decrease in content of glutamate and aspartate in medullary dorsal horn and this effect of capsaicin was unaffected by ruthenium red.

---

**Keywords;** Dental caries, *S. mutans*, insoluble glucan, glucanase, *Streptomyces* SW-522,  $\alpha$ -1,3 glucan.