

## 흰쥐의 Nucleus Raphe Magnus로부터 분리된 신경세포의 전기생리학적 성질

남상채<sup>1</sup> · 임원일<sup>2</sup> · 조사선<sup>3</sup> · 김 전<sup>2</sup>

<sup>1</sup>전남대학교 의과대학 생리학교실, 서울대학교 의과대학 <sup>2</sup>생리학교실, <sup>3</sup>해부학교실

**Electrophysiological Properties of the Neurons Dissociated from the Nucleus Raphe Magnus in Postnatal Rats.** Sang Chae Nam<sup>1</sup>, Wonil Lim<sup>2</sup>, Sa Sun Cho<sup>3</sup>, and Jun Kim<sup>2</sup> <sup>1</sup>Department of Physiology, Chonnam University Medical School, Kwangju and Departments of <sup>2</sup>Physiology & Biophysics and <sup>3</sup>Anatomy, Seoul National University, College of Medicine, Seoul 110-744, Korea

Neurons in the nucleus raphe magnus are involved in descending modulation of nociceptive transmission. In this study, we attempted to investigate electrophysiological properties of the NRM neurons dissociated from the postnatal rat medulla. The NRM neurons in the coronal slices of and the dissociated neurons from the postnatal rat medullae were immunohistochemically identified using antibody against serotonin. Relatively small number of neurons were positively stained in both preparations. The positively stained neurons displayed large cell body with double or multiple neurites. Using whole-cell patch clamp configuration ionic currents were recorded from the dissociated NRM-like neurons selected by criteria such as size and shape of cell body and cell population. Two types, high- and low-threshold, of voltage-dependent calcium currents were recorded from the dissociated NRM-like neurons. Some neurons displayed both types of calcium currents, whereas others displayed only high-threshold calcium current. Voltage-dependent potassium currents were also recorded from the dissociated NRM neurons. Some neurons displayed both transient outward and delayed rectifier currents but others showed only delayed rectifier current. These results suggest that there are at least two types of calcium currents and two types of potassium currents in the dissociated NRM neurons.

**Key Words:** Nucleus raphe magnus, Medulla, Serotonin antibody, Calcium current, Potassium current

### 서 론

Nucleus raphe magnus(NRM)에 있는 신경세포들은 nociceptive processing에 대한 고위중추로부터의 하향성 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다. 이 조절에는 오피오이드들이 관여하고 있어 이 물질들이 봉선핵 중 특히 NRM과 그 주위로부터 기시하는 억제성 bulbosplinal 경로를 활성화시켜 진통작용을 나타내는 것으로 알려졌다(Basbaum & Fields, 1984). 이와 같이 주로 수로주위 회백질부(periaquiductal gray, PGA)로부터 NRM을 거쳐 진통작용을 나타내는 내재성 진통계 뿐만 아니라 dorsal raphe로부터 오는 통증조절에도 NRM은 중요한 역할을

하고 있고 알려졌다(Wang & Nakai, 1995). 최근에는 NRM이 통증조절은 물론 autonomic transmission 조절에도 중요한 역할을 한다고 보고되었다. NRM 세포가 동맥의 화학수용체에 의해 활성화 된 고속핵(nucleus tractus solitarius)신경세포의 흥분성을 감소시킨다고 보고되었다(Perez & Ruiz, 1995). 또 NRM은 동맥혈압과도 밀접한 관계가 있어 혈압을 변화시켜 주었을 때 NRM 세포들중 on cell과 off cell의 활성도가 변화한다고 알려졌다(Thurston & Randich, 1995). 보다 정밀한 spectral 분석방법을 통하여 이들의 관계를 조사한 결과 NRM 신경세포중 on cell은 혈압이 낮을 때 활성화되고 반대로 off cell은 혈압이 높을 때 활성화되는 것이 관찰되었다(Leung & Mason, 1996).

NRM 신경세포는 serotonin을 함유하고 있다고 알려졌다(Seinbusch, 1981; Skagerberg & Bjorklund, 1985). Sero-

책임저자 : 김 전, ☎ 110-799 서울시 종로구 연건동 28번지  
서울대학교 의과대학 생리학교실

tonin 뿐만 아니라 최근에는 NRM 신경세포중에는 serotonin과 GABA를 같이 함유하고 있는 세포들도 관찰되었다(Stamp & Semba, 1995). NRM 세포들에 대한 serotonin의 영향은 상반된 결과를 나타내어 명확하게 밝혀지지 않았지만(Inase et al, 1987; Millan et al, 1989), GABA에 의한 영향은 농도에 따라 다른 것으로 알려졌다. 즉, GABA<sub>B</sub> 수용체 효현제인 baclofen을 NRM에 투여할 때 저농도에서는 진통을 나타내고, 고농도에서는 통각과민을 일으킨다고 보고되었다(Thomas et al, 1995). 하지만 이 신경전달물질들의 영향뿐만 아니라 진통과 autonomic transmission에 NRM 세포들이 어떠한 역할을 하는지 세포수준에서의 연구가 거의 없다.

따라서 본 연구에서는 여러가지 기능에서 NRM 신경세포의 역할을 보다 잘 이해하기 위하여 NRM 신경세포의 전기생리학적 특성을 세포수준에서 관찰하였다. 이 실험에서 얻어진 일부의 결과를 학술대회 초록으로 발표하였다(Nam et al, 1996).

## 실험 방법

### 동물

생후 2주령된 Sprague-Dawley계 흰쥐를 암수 구별없이 사용하였다.

### 연수조직 절편

흰쥐의 복강내로 sodium pentobarbital(30~40 mg/kg)을 주사하여 마취시킨 뒤 흉곽을 열어 좌심실에 케놀라를 삽입하고 우심방을 절개하였다. 케놀라를 통하여 헤파린이 포함된 생리식염수를 관류시켜 체내의 혈액을 제거시켰다. 혈액이 제거되면 4% paraformaldehyde 생리완충액을 관류하여 조직을 고정하였다. 고정된 뇌를 적출하여 4% paraformaldehyde 용액에 넣어 두어 후고정(postfixation)을 하였다. 1~2시간후에 조직을 꺼내어 0.1 M 인산염 완충액에 sucrose를 넣은 용액에 넣어두었다. 이때 5% sucrose 용액에서부터 10%, 30% sucrose 용액에 차례로 넣었고, 30% 용액에 4°C에서 24시간동안 보관하여 조직 안쪽까지 충분히 스며들게 하였다. 조직을 냉동절편기에 올려놓고 두께가 20  $\mu$ m 절편으로 잘라서 냉장보관하였다. 조직절편들은 젤라틴으로 피막을 입힌 슬라이드 유리에 붙여 놓았다.

### 단일 신경세포 분리

생후 2주된 흰쥐를 절두하여 머리를 4°C의 칼슘과 마그네슘 이온이 없는 용액(CMF 용액)에 넣는다. CMF 용

액에 산소를 공급해 주면서 두피를 제거하고 두개를 열어 뇌를 적출해 냈다. 뇌간을 제외한 조직들을 모두 제거한 후 뇌간을 안면신경 수준에서 두께가 400~500  $\mu$ m이 되도록 잘라서 2개의 뇌간 절편을 얻었다. 뇌간조직들의 중앙 1/3, 복측으로 1/3되는 부위를 떼어냈다. 떼어낸 조직들은 0.1% trypsin이 포함된 CMF 용액에 넣고 산소를 공급해 주면서 36°C에서 50분간 배양을 하였다. 효소처리된 조직들을 CMF 용액으로 세차례 씻고 DMEM 용액에 넣었다. 직경의 크기가 다른 유리 pipette으로 부드럽게 기계적 작용을 가하여 단일세포들을 분리시켰다. 분리된 단일세포들은 polyethylenimine으로 피막을 입힌 덮개 유리 위에 뿌려놓았다. 단일세포들이 덮개 유리위에 붙은 뒤 CO<sub>2</sub> 배양기안에 넣어 보관하였다.

### 면역조직(세포)화학적 염색방법

위에서 얻은 연수조직이나 단일신경세포들을 serotonin 항체와 peroxidase-antiperoxidase (PAP) 방법을 이용하여 염색하였다. 먼저 연수조직절편들은 그대로 사용하였고 단일 신경세포들은 CO<sub>2</sub> 배양기로부터 꺼내어 실온에서 인산염 완충액에 5분간 넣어 씻어준 뒤 4% paraformaldehyde 인산염 완충용액으로 바꾸어 주고 20~30분후에 인산염 완충액으로 여러번 씻은 뒤 사용하였다. 연수조직(혹은 단일신경세포)을 0.5% Triton X-100과 0.3% hydrogen peroxide를 함유하고 있는 인산염 완충액으로 희석(1:10)한 blocking swine serum 용액에서 약 40분동안 배양하였다. 이어서 토끼 polyclonal serotonin 항체를 함유한 Triton과 인산염 완충 혼합액(1:200)으로 바뀌준 뒤 3시간(단일세포)~3일동안 배양하였다. 이때 serotonin 항체에 대한 대조군은 IgG를 사용하였으며, 어두운 곳에 보관하였다. 인산염 완충액으로 세 번 씻은 뒤 swine anti-rabbit 이차 항체를 인산염 완충액과 Triton 혼합용액에 1:100으로 희석시킨 뒤 약 1시간동안 배양하였다. 인산염 완충액으로 세 번 씻은 뒤 토끼 PAP 항체를 인산염 완충액과 Triton 혼합용액에 1:200으로 희석시킨 뒤 1시간정도 배양하였다. 다시 인산염 완충액으로 세 번 씻은 뒤 0.1 M acetate 완충액과 0.03% hydrogen peroxide 용액이 들어 있는 3-amino-9-ethylcarbazole substrate 용액으로 5~30분간 염색을 하였다. 인산염 완충액으로 세 번 씻고 glycergel 용액으로 mounting한 다음 덮개 유리로 덮었다.

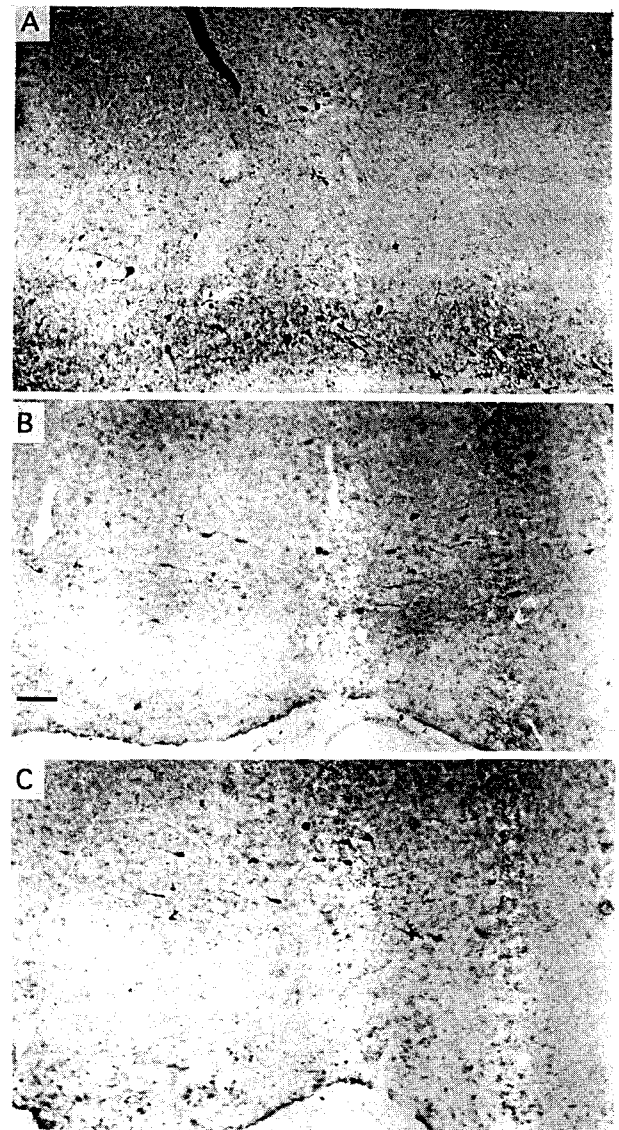
### 전기생리학적 기록방법

안면신경 수준에서 연수 관상절편의 중앙, 복측으로부터 분리된 단일 신경세포들로부터 칼슘이온 전류와 칼륨이온 전류를 기록하였다. 이때 기록은 Hamill et al (1981)

이 사용한 whole-cell patch-clamp 기록방법을 사용하였다. 미세전극의 저항은 2~3 MΩ인 것을 사용하였으며 막전압 고정과 전류측정에는 EPC-7 patch clamp 증폭기(List, 독일)를 사용하였다. 이 증폭기는 labmaster DA 변환기(Axon Instrument, 미국)를 통하여 컴퓨터에 연결하였으며 실험수행 명령의 발생과 얻어진 전기신호의 저장 및 분석은 컴퓨터에 의해 이루어졌다. 이때 사용한 software는 p-Clamp(Axon Instruments)를 사용하였으며 실온에서 기록하였다. 칼슘이온 전류를 기록하기 위한 피펫 내에 채운 용액의 성분은(mM): CsCl 120, MgCl<sub>2</sub> 2, TEA-Cl 20, EGTA 0.5, HEPES 10, pH 7.2이었으며, 세포외 용액은(mM): NaCl 혹은 n-methyl-d-glucamine 140, KCl 5.4, CaCl<sub>2</sub> 10, MgCl<sub>2</sub> 0.5, HEPES 5, glucose 5.5, pH 7.2이었다. 또 칼륨이온 전류를 기록하기 위하여 피펫에 채운 용액의 성분은(mM): KCl 140, MgCl<sub>2</sub> 2, EGTA 11, CaCl<sub>2</sub> 1, HEPES 10, pH 7.4이었으며, 세포외 용액의 조성은(mM): NaCl 140, MgCl<sub>2</sub> 0.5, CaCl<sub>2</sub> 2.5, K<sup>+</sup> 5, glucose 5, pH 7.4이었다.

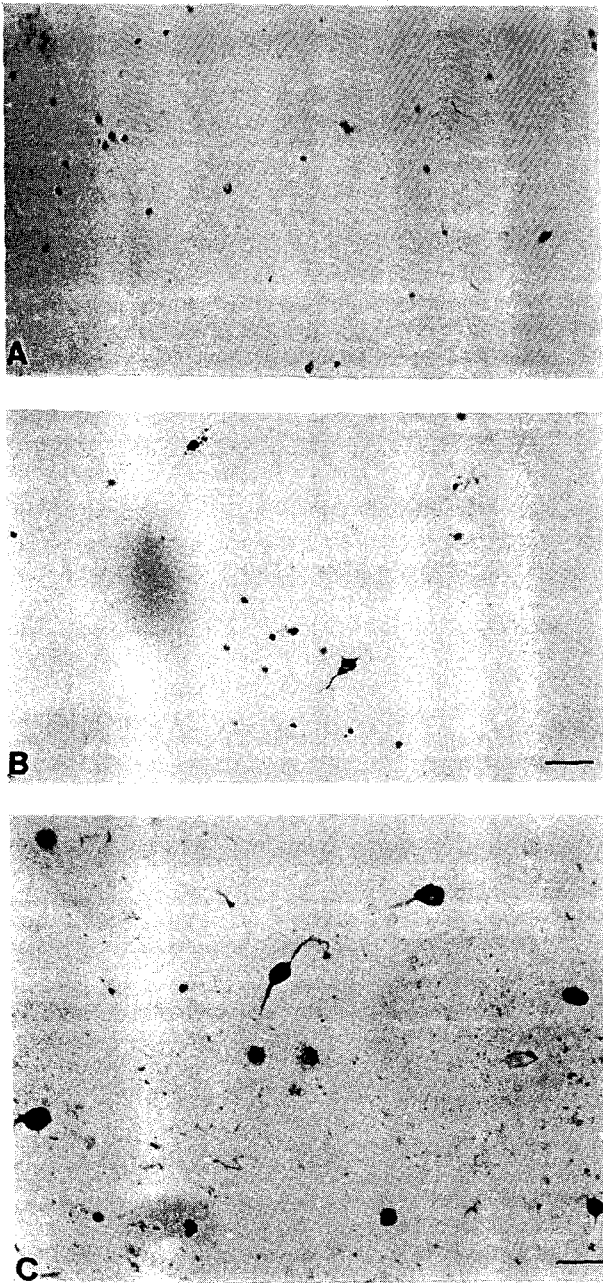
## 결 과

오피오이드 내재 진통계에서 NRM의 역할을 규명하기 위해 NRM 신경세포의 전기생리학적 특성을 세포수준에서 조사하려면 단일 NRM 신경세포에서 연구하는 것이 바람직하다. 단일 NRM 신경세포는 효소처리와 기계적 작용을 가하여 얻을 수 있으나, 분리된 세포가 NRM 신경세포임을 확인하는 과정이 반드시 필요하다. 이를 위해 먼저 NRM 신경세포를 분리하기 전에 뇌조직에서 이 세포의 분포양상과 모양 등을 면역조직화학적 방법으로 확인하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 생후 2주된 흰쥐를 고정하여 연수를 절편으로 만든 후 serotonin 항체로 염색을 하여 NRM 세포들의 분포와 모양을 확인하였다. 염색된 세포들은 안면신경 수준(Fig. 1B)의 전(Fig. 1A)과 후(Fig. 1C)에 위치해 있었으며 NRM 신경세포들이 안면신경 수준보다 앞쪽에서는 연수의 중앙과 복측에 분포되어 있으나 뒤쪽으로 갈수록 복측에서만 관찰되었다. 모양은 양극 혹은 다극성의 neurite를 갖는 삼각형 혹은 타원형이었으며 염색된 세포들의 수가 적었다. 이러한 신경세포들의 모양을 분리된 단일 신경세포들의 모양과 비교하였다. NRM 신경세포들을 분리하여 고정한 뒤 동일한 serotonin 항체로 염색한 결과가 Fig. 2에 나타나 있다. Fig. 2A에는 염색이 안된 세포들로서 크기도 작고 구형의 모양을 보여주고 있다. 이에 반해 Fig. 2B에는 serotonin 항체로 염색이 되었고 크기도 다른 세포들보다 크

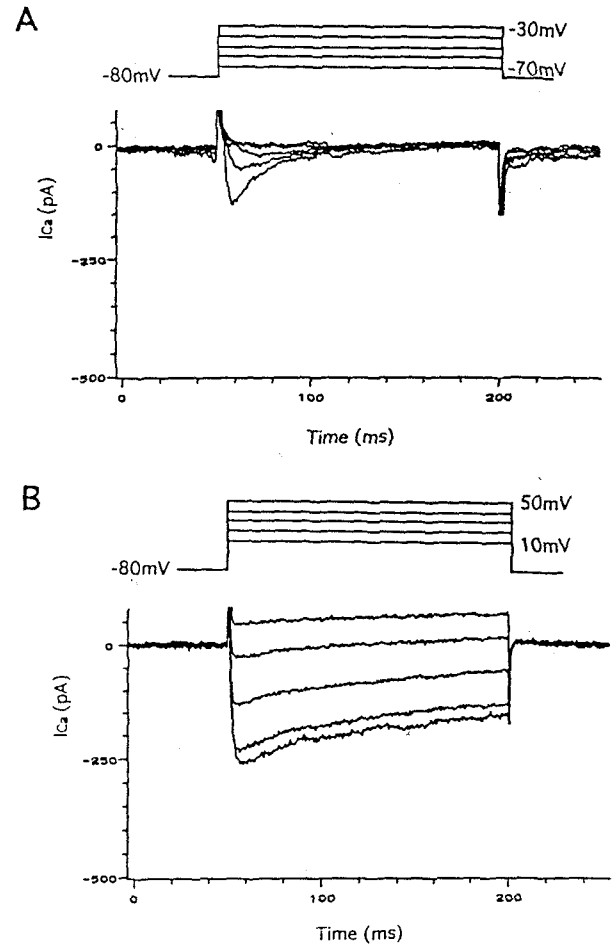


**Fig. 1.** Immunostaining of NRM neurons in situ from postnatal rats using serotonin antibodies. Three coronal sections of a P10 rat medulla showing positive staining of NRM neurons: coronal (A), the facial nerve (B) and caudal (C) levels. Note positively stained neurons in medial and ventral part of sections. Bar in B indicates 40  $\mu$ m.

며, 다극성 모양을 하고 있는 세포를 보여주고 있다. 분리된 세포들의 모양은 다양하여 단극성, 양극성 신경세포들도 보였다(Fig. 2C). 여러 분리된 세포들중에서 다른 세포들에 비해 크고 양극성 혹은 다극성 neurite를 갖는 세포들만을 골라서 전기생리학적 기록에 사용하였다. 이처럼 선택된 NRM 세포와 유사한 신경세포들로부터 칼

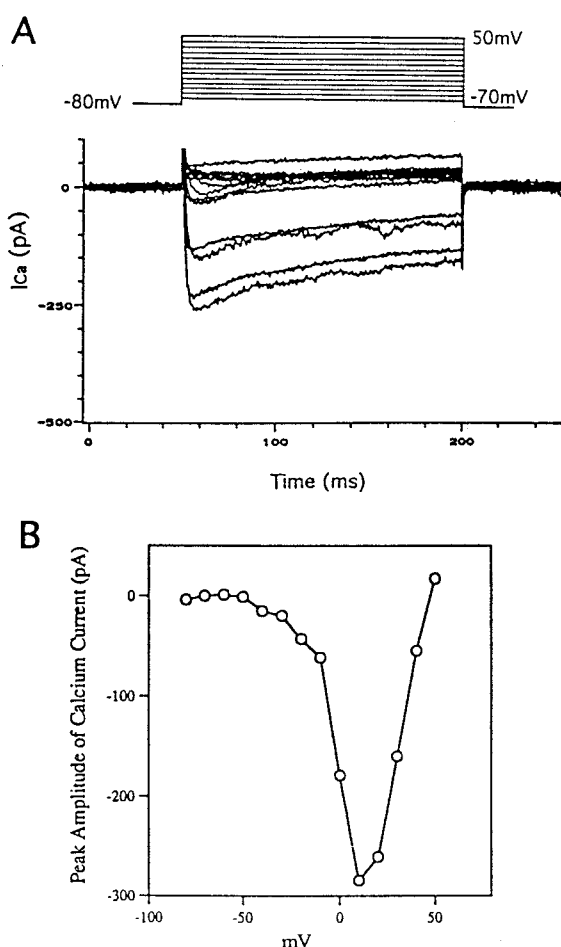


**Fig. 2.** Immunostaining of acutely dissociated neurons from a P11 rat medulla with serotonin antibodies. **A.** Negatively stained neurons against serotonin antibodies in coverslip. **B.** Negatively or positively stained neurons against serotonin antibodies in the same coverslip. Note that positively stained neurons with multipolar neurites are larger than negatively stained neurons. **C.** Sometimes large neurons with bipolar neurites were also observed. Bars in B and C indicate 50  $\mu\text{m}$  and 25  $\mu\text{m}$ , respectively.



**Fig. 3.** Two types of calcium currents recorded from an acutely dissociated NRM-like neurons. **A.** Low-threshold calcium currents were from a NRM-like neuron. Membrane potential was held at  $-80\text{ mV}$  and stepped to  $+70\text{ mV}$  with  $10\text{ mV}$  increments. **B.** High-threshold calcium currents generated by series voltage steps from  $-80\text{ mV}$  to  $10\text{ mV}$  with  $10\text{ mV}$  increments were recorded from a different NRM-like neuron.

슘이온과 칼슘이온 전류들을 기록하였다. 칼슘이온 전류는 low-threshold와 high-threshold 두 종류가 기록되었다 (Fig. 3). 전자는 threshold가  $-50\text{ mV}$  근처이며 peak가  $-30\text{ mV}$  근처이었고 (Fig. 3A), 후자는 각각  $-20\text{ mV}$ 와  $10\text{ mV}$  이었다 (Fig. 3B). Low-threshold 칼슘전류가 있는 세포들은 high-threshold 칼슘전류도 갖고 있었으며 (Fig. 4A), low-threshold 칼슘전류만 갖고 있는 세포들은 관찰되지 않았다. 이러한 칼슘이온 전류들은 막전압 의존성을 나타냈으며 가장 큰 전류는  $0\text{ mV}$ 와  $10\text{ mV}$  사이에서 기록되었다 (Fig. 4B). 칼슘이온 전류 뿐만 아니라 칼륨이온 전



**Fig. 4.** Two types of calcium currents in an acutely dissociated NRM-like neuron. **A.** Both high- and low-threshold calcium currents were recorded from the same neuron. Membrane potential was held at  $-80$  mV and stepped to  $+70$  mV with  $10$  mV increments. **B.** I-V relationship of the peak currents in **A.**

류도 기록되었으며, 여러 칼륨이온 전류중에서 막전압 의존성 delayed rectifier는 모든 세포에서 기록되었다(Fig. 5, 6B). 하지만 어떤 세포에서는 transient 칼륨이온 전류 ( $I_A$ )가 기록되기도 하였다(Fig. 6A).  $I_A$ 를 갖는 세포들은 delayed rectifier 칼륨이온 전류도 같이 갖고 있었으며,  $I_A$ 만을 갖고 있는 세포들은 관찰되지 않았다.

고 찰

흰쥐의 연수에서 NRM 신경세포의 분포양상과 모양을

살펴보기 위한 serotonin 항체 염색결과 안면신경 수준 전후로 관상절편의 중앙과 복측에 NRM 신경세포들이 분포한 것은 다른 연구자들의 연구결과와 같다(Pan et al, 1990; 1993). 연수 절편을 이용한 in vitro 실험에서 오피오이드를 사용한 전기생리학적 실험과 serotonin과 biocytin을 이용한 면역조직화학적 방법으로 NRM 세포가 안면신경 수준에서 절편의 중앙 복측에 있음이 관찰되었다(Pan et al, 1993). 세포의 모양 또한 유사하여 성숙한 쥐의 NRM 세포모양이 여러개의 neurites가 있는 다극성 혹은 양극성 모양을 하고 있었다. 이러한 NRM 세포의 모양과 분포양상이 유사함에도 불구하고 serotonin 항체로 염색된 NRM 세포의 수가 많지 않았다. 소수의 NRM 세포들이 serotonin 항체에 염색된 원인을 몇가지로 나누어서 생각해 볼 수 있다. 첫째, 본실험에서 사용된 연령의 쥐 NRM에는 실제로 소수의 신경세포들이 존재하기 때문이거나 둘째, 많은 신경세포들이 존재하지만 조직 절단시 일부 세포들이 손상을 받아 세포모양을 유지하지 못하게 되었기 때문이거나 셋째, 많은 신경세포들이 존재하지만 serotonin 항체에 반응하지 않는 세포들이 있기 때문 등등을 고려해 볼 수 있다. 여러가지 가능성들중에서 조직절단시 일부 세포들은 손상을 받아 세포수에 영향을 줄 수 있기는 하지만, 보다 설득력 있는 가능성은 NRM에 있는 모든 신경세포들이 serotonin을 함유하고 있지 않을 수도 있다는 것이다. 이와 같은 가능성은 전기생리학적 실험결과에 의해 알려진 결과들과 즉, NRM에는 한 종류의 신경세포만 있지 않다는 사실에 의해 뒷받침된다. NRM에는 tail-flick 바로 전에 높은 활성도를 보이는 on cell과 이와 반대로 활동전압의 발생이 갑작스레 멈춰지는 off cell의 두 종류의 세포가 있다고 알려졌다 (Fields et al, 1988). 또 기능적으로 볼 때 NRM에 serotonin이나 serotonin receptor agonist 등을 국소 도포를 하거나 전신투여를 할 경우 나타나는 반응 또한 다양하여 진통 (Inase et al, 1987)을, 혹은 통각과민(Millan et al, 1989)을 나타내거나 혹은 아무 영향이 없는 경우도 있어(Aimone & Gebhart, 1988) NRM에 다양한 세포가 있을 수 있음을 나타내 주고 있다. 최근에 직접적으로 연수절편에서 전기생리학적 및 면역조직화학적 방법을 이용한 실험을 통하여 NRM에는 serotonin 항체로 염색이 되는 세포와 염색되지 않는 세포가 존재함이 밝혀졌다(Pan et al, 1993). Pan 등은 전기생리학적 방법을 이용한 기능적 분류방법을 통하여 NRM에 off cell과 유사한 primary cell type과 on cell과 유사한 secondary cell type이 있음을 관찰하였으며, 이 세포들을 serotonin 항체로 염색한 결과 primary cell type에서는 93%의 세포가, secondary cell type에서는 10%의 세포만이 염색된다는 것을 알았다. 이는 primary

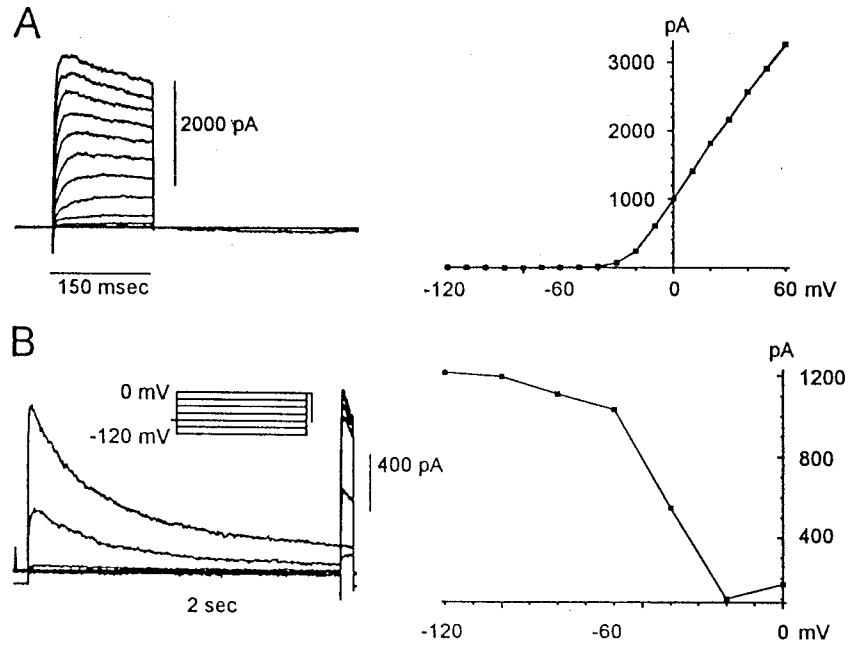


Fig. 5. Activation (A) and inactivation (B) of delayed rectifier potassium currents recorded from an acutely dissociated NRM-like neuron. Note that this neuron did not display transient potassium current ( $I_A$ ).

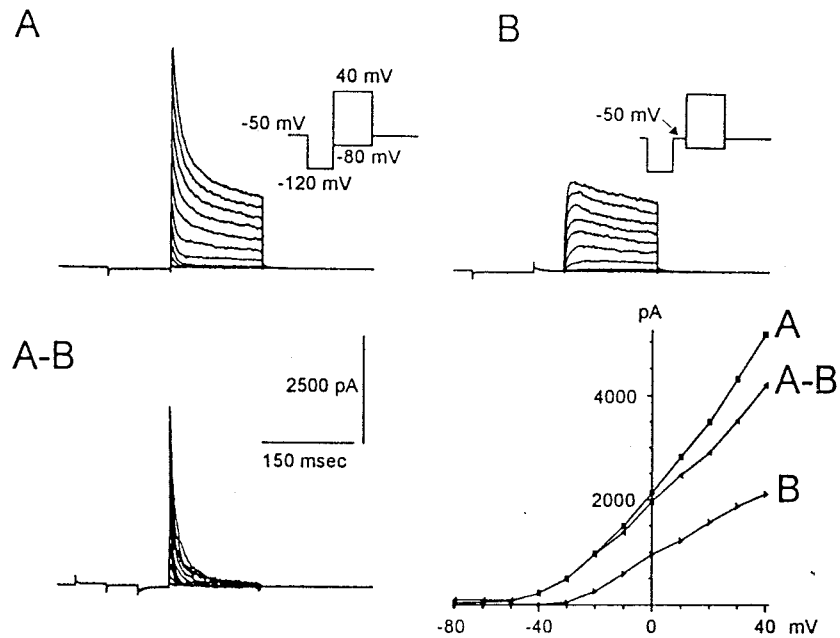


Fig. 6. Transient ( $I_A$ ) and delayed rectifying potassium currents recorded from an acutely dissociated NRM-like neuron. A. Two types of potassium currents were recorded from a NRM-like neuron. B. Delayed rectifying potassium currents generated by the same protocol with prestep potential were recorded from the same cell in A. A-B. Transient ( $I_A$ ) potassium currents generated by subtraction currents in B from currents in A. Note fast activation and inactivation of  $I_A$ .

cell type 세포에는 serotonin이 함유되어 있지만 secondary cell type 세포에는 serotonin이 함유되어 있지 않음을 시사해 주고 있으나 반대의 경우도 있어서 NRM에 다양한 세포의 종류가 존재할 수 있음을(특히 serotonin을 함유하지 않는 세포도 많이 있음을) 보여주고 있다.

분리된 단일 NRM 신경세포로부터 칼슘이온과 칼륨이온 전류를 기록할 수 있어 분리된 신경세포가 살아 있다는 의미뿐만 아니라 분리된 세포들을 이용하여 NRM 세포의 전기생리학적 특성과 NRM의 생리학적 기능을 세포수준에서 연구할 수 있음을 시사해 주고 있다. 단일 NRM 세포에서 high-threshold와 low-threshold의 두 종류 칼슘이온 전류를 기록했다는 보고가 없어 본 실험의 결과와 비교할 수 없으나 dorsal raphe 신경세포에서는 두 종류의 칼슘이온 전류가 기록되었다(Penington et al, 1991). Dorsal raphe 신경세포의 칼슘전류 특성과 본 실험에서 NRM 세포로부터 기록된 칼슘전류의 특성은 유사하나 크기가 차이난다. 이는 dorsal raphe 세포에서는  $Ba^{2+}$ 을, NRM 세포에서는  $Ca^{2+}$ 을 carrier로 사용했고 이들의 농도 또한 차이가 있었기 때문이라 여겨진다. 다른 신경세포에서와 마찬가지로 NRM 신경세포에서도 칼슘이온 전류는 이 세포의 전기적 활성도에 크게 영향을 줄 수 있다. 특히 low-threshold 칼슘전류는 자발적인 활성도의 발생에 중요한 역할을 하게 되리라 생각된다. 왜냐하면 이 칼슘이온 전류가 다른 신경세포 활동전압 발생에 중요한 역할을 하기 때문이다. 예를 들면 척수후근 신경절 세포의 경우 burst firing을 유발시키는 탈분극후 전압(after-depolarizing potential)을 발생시키는 데 low-threshold 칼슘전류가 기여하고 있음이 관찰되었다(Loving & White, 1989). 또 시상 신경세포에서는 low-threshold 칼슘전류가  $-55$  mV보다도 더 탈분극된 막전압에서는 불활성화되고  $-70$  mV보다도 더 과분극된 막전압에서는 불활성화가 제거되어 안정막 전압에서 탈분극을 유발시키는 한 요인이 될 수 있음을 나타냈다(Jahnsen & Llinas, 1984a, b). 이는 NRM 신경세포가 자발적으로 활동전압을 일으킬 수 있음을 암시해 주고 있다. 실제로 NRM 신경세포는 외부의 자극없이 자발적인 활동전압을 발생하고 있음이 알려졌다. 예를 들면 쥐를 이용한 생체 실험에서 NRM 신경세포가 자발적 활동전압을 나타내고 있으며, 이 활동전압은 serotonin(Wessendorf & Anderson, 1983; Hentall et al, 1993)에 의해서 혹은 acetylcholine(Wessendorf & Anderson, 1983; Hentall et al, 1993)에 의해서 혹은 norepinephrine(Wessendorf & Anderson, 1983)에 의해서 조절됨이 밝혀졌다. 생체실험에서 뿐만 아니라 연수 절편을 이용한 in vitro 실험에서도 NRM 신경세포가 자발적 활동전압을 나타내고 이 활동전압은 serotonin과 fentanyl

에 의해 조절됨이 관찰되었다(Pan et al, 1993; Ohta et al, 1995). 이 결과들은 NRM 신경세포의 자발적 활동전압의 발생에 low-threshold 칼슘이온 전류가 중요한 역할을 할 수 있음을 시사해 주고 있다.

칼슘이온 전류 뿐만 아니라 칼륨이온 전류도 NRM 신경세포에서 기록되었다. 세포에 따라서 초기 외향전류 혹은 일과성 외향 전류라 부르는  $I_A$ 와 delayed rectifier 전류가 같이 기록되는 세포가 있는가 하면, delayed rectifier 전류만 기록되는 세포가 있었다. 칼슘이온 전류와 마찬가지로 아직까지 NRM 신경세포의 칼륨이온 전류에 대해 잘 연구되어 있지 않아 비교분석하기 곤란하다. 지금까지 알려진 바에 따르면 NRM 신경세포의 막전압이 muscarine이나 serotonin에 의하여 과분극이 되는데, 이 과분극을 일으키는 기전에 칼륨이온 전류가 관여한 것으로 보고되었다. Serotonin에 의한 NRM 신경세포의 과분극은 inwardly rectifying 칼륨이온 전류에 의해 유발됨이 밝혀졌다(Pan et al, 1993). 또 muscarine에 의한 NRM 신경세포의 과분극은 muscarine이  $M_2$  type 수용체와 결합하여 칼륨이온에 대한 전도도를 증가시켜서 발생하는 것으로 알려졌다(Pan & Williams, 1994). NRM 신경세포에서  $I_A$ 에 관한 연구보고는 없지만 다른 세포에서의 연구에 의하면  $I_A$ 는 활동전압 발생의 빈도수에 영향을 준다고 알려졌다(Connor & Stevens, 1971; Farber & Klee, 1972). 즉  $I_A$ 가 활동전압 발생시 탈분극시기에 활성화되기 때문에 탈분극되는 시간을 늦게 하여 활동전압 발생빈도를 낮게 한다는 것이다. 이러한 사실은 NRM 신경세포들도 세포에 따라서 활동전압의 발생빈도 수가 다양할 수 있어 NRM 신경세포들이 다양한 생리학적 기능을 나타낼 수 있음을 암시해 주고 있다.

## 감사의 글

이 연구는 1995-1997년 과학기술처 특정연구 생명공학 기술개발사업(B-02-08-A-03)의 지원으로 수행되었음.

## 참 고 문 헌

- Aimone LD & Gebhart GF. Serotonin and/or an excitatory amino acid in the medial medulla mediates stimulation-produced antinociception from the lateral hypothalamus in the rat. *Brain Res* 450: 170-180, 1988
- Basbaum AI, Fields HL. Endogenous pain control systems: brainstem spinal pathways and endorphin circuitry. *Ann Rev Neurosci* 7: 309-338, 1984

- Connor JA, Stevens CF. A transient outward membrane current in gastropod neural somata. *J Physiol* 213: 21–30, 1971
- Faber DC, Klee MR. Membrane characteristics of bursting pacemaker neurons in aplysia. *Nature New Biol* 240: 29–31, 1972
- Fields HL, Barbaro NM, Heinricher MM. Brain stem neuronal circuitry underlying the antinociceptive action of opiates. *Prog Brain Res* 77: 245–257, 1988
- Hamill O, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FJ. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pfluegers Arch* 391: 85–100, 1981
- Hentall ID, Andresen MJ, Taguchi K. Serotonergic, cholinergic and nociceptive inhibition or excitation of raphe magnus neurons in barbiturate-anesthetized rats. *Neuroscience* 52: 303–310, 1993
- Jahnsen H, Llinas R. Electrophysiological properties of guinea pig thalamic neurones: An in vitro study. *J Physiol* 349: 205–226, 1984a
- Jahnsen H, Llinas R. Ionic basis for the electroresponsiveness and oscillatory properties of guinea pig thalamic neurones in vitro. *J Physiol* 349: 227–247, 1984b
- Leung CG & Mason p. Spectral analysis of arterial blood pressure and raphe magnus neuronal activity in anesthetized rats. *Am J Physiol* 271(2 pt 2): R483–489, 1996
- Millan MJ, Bervotes K, Colpaert FC. Apparent hyperalgesic actions of the 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT, in the rat reflects induction of spontaneous tail-flicks. *Neurosci Lett* 107: 227–232, 1989
- Nam SC, Cho SS, Lim W, Kim J. Identification of acutely isolated raphe magnus neurons from developing rat medulla. *Neurosci Abstr* 22: 113, 1996
- Ohta Y, Alojado ME, Kemmotsu O. Activity changes in rat raphe magnus neurons at different concentrations of entyl in vitro. *Anesth Analg* 80(5): 890–895, 1995
- Pan ZZ & Williams JT. Muscarine hyperpolarizes a subpopulation of neurons by activating an M<sub>2</sub> muscarinic receptor in rat nucleus raphe magnus in vitro. *J Neuroscience* 14: 1332–1338, 1994
- Pan ZZ, Wessendorf MW, Williams JT. Modulation by serotonin of the neurons in rat nucleus raphe magnus in vitro. *Neuroscience* 54: 421–429, 1993
- Pan ZZ, Williams JT, Osborne P. Opioid actions on single nucleus raphe magnus neurons from rat and guinea pig in vitro. *J Physiol Lond* 427: 519–532, 1990
- Penington NJ, Kelly JS, Fox AP. A study of the mechanism of Ca<sup>2+</sup> current inhibition produced by serotonin in rat dorsal raphe neurons. *J Neurosci* 11: 3594–3609, 1991
- Perez H, Ruiz S. Medullary responses to chemoreceptor activation are inhibited by locus coeruleus and nucleus raphe magnus. *Neuroreport* 6(10): 1373–1376, 1995
- Siddall PJ, Polson JW, Dampney RA. Descending antinociceptive pathway from the rostral ventrolateral medulla: a correlative anatomical and physiological study. *Brain Res* 645(1-2): 61–68, 1994
- Skagerberg G, Bjorklund A. Topographic principles in the spinal projections of serotonergic and non-serotonergic brainstem neurons in the rat. *Neuroscience* 15: 445–480, 1985
- Stamp JA, Semba K. Extent of colocalization of serotonin and GABA in the neurons of the rat raphe nuclei. *Brain Res* 677(1): 39–49, 1995
- Steinbusch HWM. Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat. Cell bodies and terminals. *Neuroscience* 6: 557–618, 1981
- Thomas DA, McGowan MK, Hammond DL. Microinjection of baclofen in the ventromedial medulla of rats: antinociception at low dose and hyperalgesia at high doses. *J Pharmacol Exp Ther* 275(1): 274–84, 1995
- Thurston CL, Randich A. Responses of on and off cells in the rostral ventral medulla to stimulation of vagal afferents and changes in mean arterial pressure in intact and cardiopulmonary deafferented rats. *Pain* 62: 19–38, 1995
- Wang QP, Nakai Y. The dorsal raphe: an important nucleus in pain modulation. *Brain Res Bull* 34(6): 575–85, 1994
- Wessendorf, MW, Anderson EG. Single unit studies of identified bulbospinal serotonergic units. *Brain Res* 279: 93–103, 1983