

신생흰쥐 척수후근신경절 세포에서 전압의존성 K⁺ 전류의 동정

김지목 · 정승준 · 김상정 · 김 전

서울대학교 의과대학 생리학교실

Characterization of Voltage-Gated Potassium Currents in Dorsal Root Ganglion Neurons of Neonatal Rats Jimok Kim, Sung Jun Jung, Sang Jeong Kim, and Jun Kim Department of Physiology, College of Medicine, Seoul National University, 28 Yongon-dong, Chongno-gu, Seoul 110-799, Korea

Dorsal root ganglion (DRG) is composed of neuronal cell bodies of primary afferents with diverse functions. Various types of ion channels present on DRG neurons may reflect those functions. In the present study, voltage-gated potassium currents in DRG neurons of neonatal rats were characterized by whole-cell voltage clamp method. Two types of delayed rectifier and three types of transient potassium currents were identified according to their electrophysiological properties. The delayed rectifier currents were named I_{K_e} (early inactivating) and I_{K_l} (late inactivating). Steady state inactivation of I_{K_e} began from -100 mV lasting until -20 mV. I_{K_l} could be distinguished from I_{K_e} by its inactivation voltage range, from -70 mV to +10 mV. Three transient currents were named I_{A_f} (fast inactivation), I_{A_i} (intermediate inactivation kinetics), and I_{A_s} (slow inactivation). I_{A_f} showed fast inactivation with time constant of 10.6 ± 2.0 msec, I_{A_i} of 36.9 ± 13.9 msec, and I_{A_s} of 60.6 ± 2.9 msec at +30 mV, respectively. They also had distinct steady state inactivation range of each. Each cell expressed diverse combination of potassium currents. The cells most frequently observed were those which expressed both I_{K_l} and I_{A_f} , and they had large diameters. The cells expressing I_{K_e} and expressing I_{K_e} , I_{A_i} , and I_{A_s} usually had small diameters. Judging from cell diameter, capsaicin sensitivity or action potential duration, candidates for nociceptor were the cells expressing I_{K_e} , expressing I_{K_e} and I_{A_i} , and expressing I_{K_e} and I_{A_s} . The types and distribution of potassium currents in neonatal rat DRG were similar to those of adult rat DRG (Gold et al, 1996b).

Key Words: Dorsal root ganglion, Potassium current, Voltage clamp, Characterization, Neonatal rat

서 론

척수후근신경절 (dorsal root ganglion, DRG) 세포는 말초에 있는 일차구심신경의 세포체가 모여 있는 부분이다. 말초의 감각신경 종류가 다양하듯 척수후근신경절 세포의 종류도 다양하다. 감각신경섬유는 전도속도에 따라 A α β , A δ , C 섬유 등으로 나뉘고 있고, 이중 유해정보는 A δ 와 C 섬유를 통해 전달된다 (Yaksh & Hammond 1982; Fyffe, 1983; Harper & Lawson, 1985). 척수후근신경절에는 이렇듯 다양한 세포가 모여 있기 때문에 이들을 단일세포로 분리하여 특정감각정보를 연구하기 위해서는 특정세포만을 선택하는 것이 필수적이다. 그러나 기

존의 척수후근신경절 세포의 분류는 전도속도에 따른 것이므로 단일세포로 분리할 경우 이에 따른 분류는 불가능해진다. 따라서, 단일세포에서 측정가능한 전기생리학적 성질과 기준에 구분된 세포종류를 연결시키려는 연구가 활발하게 진행되고 있다.

그 중 집중적으로 연구되고 있는 부분이 세포종류마다 다르게 나타나는 이온통로의 분포에 관한 내용이다. 개구리 (Campbell, 1992), 생쥐 (Valmier et al, 1989; Pearce & Duchon, 1994), 흰쥐 (McLean et al, 1988; Gold et al, 1996a; Yoshimura et al, 1996) 등에서 테트로도톡신 (tetrodotoxin)에 의해 차단되지 않는 Na⁺ 전류가 유해감수기의 특징 중 하나인 지름이 작은 세포 (Harper & Lawson, 1985)에서 관찰되었다고 보고된 바 있다. 또한, T- 및 L-형의 칼슘전류가 흰쥐 척수후근신경절 세포에서는 다르게 분포되어 있다는 보고도 있다 (Scroggs & Fox,

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

1992). K^+ 전류는 생쥐 및 흰쥐 (Kostyuk et al, 1981; Valmier et al, 1989; Gold et al, 1996b; Safronov et al, 1996; Yoshimura et al, 1996), 닭 (Florio et al, 1990) 및 개구리 (Campbell, 1992)의 척수후근신경절 세포와 흰쥐의 미주 감각신경절 (nodose ganglion) (McFarlane & Cooper, 1991), 생쥐 척수후근신경절의 슈반세포 (Amedee et al, 1991) 및 흰쥐의 시교차위핵 부위세포 (Cobbett et al, 1989)에서 각각 동정된 바 있다. 그러나 위의 연구결과들을 보면 K^+ 전류는 동물의 종에 따라, 부위에 따라 그 분포와 성질이 크게 다르게 나타나고 있다.

척수후근신경절의 단일세포에서 세포종류를 구분하는 연구는, 이온전류의 분포 이외에 다른 전기생리학적 성질에 대해서도 활발히 진행되고 있다. 활동전압의 경우, 유해감수기 세포에서는 그 기간이 길고 재분극 곡선의 어깨부분이 관찰된다는 점이 보고되었다 (McLean et al, 1988; Scroggs et al, 1994). 또한 유해감수기는 캡사이신 (capsaicin)에 선택적으로 반응하고 비선택적 양이온전류를 발생한다고 알려져 있다 (Foster & Rampage, 1981; Kennis 1982; Szolcsanyi, 1987; He et al, 1988; Szolcsanyi et al, 1988; Baumann et al, 1991; Seno & Dray 1993; Del Mar et al, 1996). 본 연구에서는 신생흰쥐의 척수후근신경절 세포에서 K^+ 전류를 동정하는 한편, 일부 세포에 대해 유해감수기가 갖는 전기생리학적 성질을 검사하여 유해감수기로 추정되는 세포에서 K^+ 전류의 분포를 알아보고자 하였다.

방 법

단일세포분리

생후 1~10 일 된 흰쥐 (Sprague-Dawley rat, 대한실험동물센터, 대한민국)의 목을 자른 후, 모든 척수 수준에서 척수후근신경절을 떼어내고 이들에 연결된 척수후근을 해부현미경 아래서 제거하였다. 신경절을 0.25 % 트립신 (Boehringer Mannheim GmbH, Germany)이 포함된 용액 (mM 단위: 140 NaCl, 5 KCl, 10 HEPES, 25 glucose, pH 7.40, 285 mOsm)에 넣고 36°C에서 25~30분간 연결조직을 소화시켰다. 볼로 끝을 다듬은 파스퇴르 파이펫으로 조직을 입출운동시켜서 단일세포를 분리하였다. 분리된 단일세포는 0.04 mg/ml의 폴리에틸렌이민이 처리된 덮개유리조각에 붙힌 후 36°C, 5% CO_2 조건의 배양기 속에서 배양하였다. 배양액은 2 mM 글루타민, 1 mM 피루브산염, 1% (v/v) 페니실린-스트렙토마이신, 10% (v/v) 태아송아지 혈청이 함유된 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, Sigma, USA) 용액이었다. 세포는 분리한

후 2~25시간 사이에 실험에 사용하였다.

전기생리학적 기록

모든 기록은 전세포막전압고정법 (whole-cell voltage clamp)으로 실온 (18~24°C)에서 행하였다. 세포가 붙어 있는 덮개유리를 기록용기로 옮겨 놓고 역위현미경 (inverted microscope, Nikon, Japan)으로 관찰하며 기록하였다. 저항을 2~3 M Ω 으로 뽑은 파이펫 (Kimble, USA)은, 무진동탁자 (Technical Manufacturing Corporation, USA) 위의 미세조절기 (Newport, Burleigh, USA)에 고정시켜서 그 위치를 조절하였다. 기록된 전기신호는 EPC-7 (List Medical Electronic, Germany) 증폭기로 증폭시켰고, 3극 베셀필터를 통해 3 kHz 이하의 신호만을 기록하였다. 증폭기로부터 출력된 신호는 오실로스코프 (Philips, The Netherlands)로 감시하는 동시에 아날로그-디지털 변환기 (TL-1, Axon Instruments, USA)를 거쳐 컴퓨터에 저장하였다. 자극전압의 발생과 데이터의 기록은 모두 pClamp-Clampex 프로그램 5.5.1 판 (Axon Instruments, USA)을 이용하였다. 디지털변환 속도는 꼬리전류 (tail current) 측정시 25 kHz, 항정상상태 비활성화 (steady state inactivation) 측정시 1 kHz, 나머지 경우에는 2 kHz였다.

용액의 조성

세포의 용액은 실리콘 튜브와 폴리에틸렌 튜브를 통해 지속적으로 기록용기 속으로 흘러가도록 하였다. 세포의 용액의 조성은 모든 막전압고정법 실험에서 (mM 단위) 140 N-methyl-D-glucamine (NMDG), 2.3 MgCl₂, 5.4 KCl, 10 HEPES, 5 glucose, 30 sucrose, pH 7.40, 290 mOsm이었다. 세포의 용액에 tetraethyl ammonium (TA)을 포함할 경우, NMDG를 120 mM로 줄이고 TEA-Cl를 20 mM 넣어 주었다. 4-aminopyridine (4-AP)은 TEA가 포함된 세포의 용액에 첨가하여 사용하였다. KCl의 농도를 변화시킬 때는 KCl을 첨가한 만큼 같은 농도의 NMDG를 빼주었다. 모든 경우 세포의 용액의 삼투압 농도는 큰 차이가 없었다. 전류고정법으로 활동전압을 기록할 때의 세포의 용액은 NMDG를 140 mM NaCl로 바꿔준 조성이었다. 캡사이신 (Sigma, USA)은 100% 에탄올에 10 mM 보관용액을 만든 후 이를 세포의 용액에 타서 실험하였다. 0.3%의 에탄올은 세포의 전기생리학적 성질에 아무 영향이 없었다. 세포내 용액은 140 KCl, 2 MgCl₂, 1 CaCl₂, 11 ethylene glycol-bis(β -aminoethyl ether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid (EGTA), 10 HEPES, 2 Mg-ATP, pH 7.20, 290 mOsm이었고 Tris로 pH를 맞추었다. 단, Fig. 2와 Fig. 3의 실험에서는 KOH로 pH를 맞추었는데 두 경우에서 외향성 전류의 성질이나 Nernst 식에 의한 K^+ 역전전압 (E_K , -82 mV 와

-86 mV)에 큰 차이가 없었다.

데이터 처리

컴퓨터에 기록된 데이터는 pClamp - Clampfit 6.0.3 및 Microcal Origin 3.73 프로그램으로 분석하였다. 항정상태 곡선은 다음의 볼츠만 곡선으로 근사(fitting)하였다.

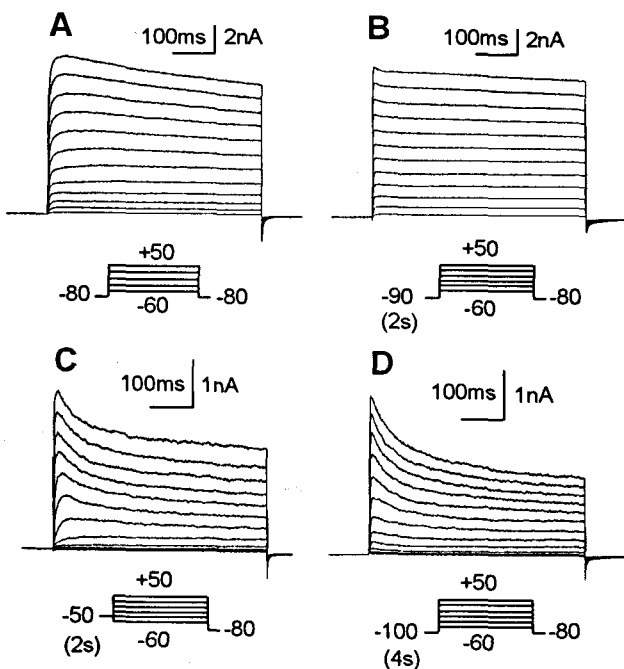
$G/G_{max} = (G_{max} - G_{min}) / \{ 1 + \exp((V - V_{1/2})/k) \} - G_{min}$ 여기서, G_{max} , G_{min} 은 각각 최대, 최소 막전도도, $V_{1/2}$ 은 절반 변화전압 (half-change voltage), k 는 기울기요소 (slope factor)이다. 통계처리한 후의 표시는 평균±표준오차

(standard error)로 나타내었다.

결 과

다양한 외향성 전류의 관찰

세포의 용액에서 Ca²⁺을 제거하고 NMDG를 주요 양이온으로 한 조건에서 기록한 외향성 전류의 종류는 매우 다양하였다(Fig. 1). Nernst 식에 의한 K⁺의 평형전압 (-86 mV)에 가까운 -80 mV로 유지전압을 고정하고, -60 mV부터 +50 mV까지 10 mV 간격으로 전류를 활성화시켰다. Fig. 1의 A부터 D는 모두 다른 세포에서 기록한 예를 나타낸 것이다. Fig. 1A에서는 일과성 전류 없이 지속성 전류 성분만 관찰되었다. 반면 B에서는, -90 mV의 2초간 전펄스 (prepulse)에 의해 지속성 성분과 함께 일과성 성분도 나타났는데, 이는 20~30 msec 동안에 모두 비활성화되는 양상을 보였다. C와 D에서는 느리게 비활성화되는 일과성 전류가 관찰되었다. C의 일과성 전류는 D의 그것보다 좀 더 빨리 시간의존적으로 비활성화되었고 -50 mV의 전펄스에 의해서도 비활성화되지 않았다. D의 일과성 전류는 -100 mV의 전펄스를 4초간 주어서 완전히 활성화시킬 수 있었다. 한편, C와 D에서는 일과성 전류 이외에도 지속성 성분도 보이고 있다. 이상과 같은 다양한 종류의 외향성 전류는 여러 크기의 세포에서 다양한 조합으로 나타났다.



외향성 전류의 K⁺에 대한 선택적 투과성 확인

외향성 전류의 이온특성을 확인하기 위하여 꼬리전류를 이용한 역전전압을 구해보았다(Fig. 2). 세포내 이온 조성은 방법에서 기술한 바와 같이 주요이온이 K⁺ 140 mM 이었고, 세포외액의 K⁺는 5.4, 28, 140 mM이었다. 세포외 K⁺ 농도가 5.4, 28, 140 mM일 때 꼬리전류의 역전전압은 각각 -66 ± 1.1 mV (n=6), -27 ± 0.3 mV (n=5), 및 $+10 \pm 0.5$ mV (n=6)이었다. Nernst 식에 의한 K⁺ 전류의 역전전압 계산값은 -82 mV, -41 mV, 0 mV이다. 실험값이 이와 비슷하게 나온 것으로 볼 때, 본 실험조건에서 기록된 외향성 전류는 거의 K⁺에 의한 것이라고 할 수 있다. 세포에서 발현하고 있는 K⁺ 전류의 종류에 상관없이 역전전압이 모두 비슷하게 나왔으므로 모든 종류의 세포에서 얻은 실험값을 함께 통계처리하였다. Fig. 2B에서는 역전전압을 세포외 K⁺ 농도의 로그 단위에 대해 나타내었다. Nernst 식에 의한 이론적인 기울기는 58 mV이고 실험으로 구한 기울기는 54 mV이었다. 이 두 값이 비슷한 점도 본 실험조건외 외향성 전류가 K⁺ 전류라는 것을 뒷받침해 주고 있다.

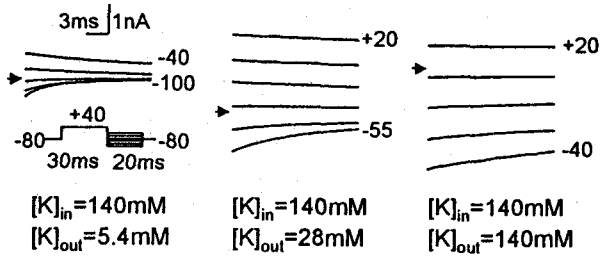
Fig. 1. Various types of outward current were observed. Current traces in A-D were recorded from four different cells. Na⁺ and Ca²⁺ currents were excluded by replacing external Na⁺ ion by N-methyl-D-glucamine and by removing external Ca²⁺. See 'Method' for detailed ionic composition. The currents were evoked during 500 msec voltage steps of which amplitudes varied from -60 mV to +50 mV with 10 mV increment. The cells were held at -80 mV near the Nernst equilibrium potential of potassium (-86 mV). A. Sustained component was observed without any transient current. B. Sharp transient current which inactivated within 20~30 msec can be seen as well as sustained current. Prepulse of -90 mV was given for 2 sec before activating voltage steps. C. Slowly activating and slowly inactivating transient current was observed with -50 mV prepulse. D. The transient component showed faster activation and slower inactivation than that in C. Prepulse of -100 mV was given for 4 sec.

외향성 전류가 K⁺ 전류인지를 확인하기 위하여 높은 농도의 K⁺ 통로 차단제를 처리하여 보았다(Fig. 3). 사용한 차단제는 TEA 20 mM 및 4-AP 8 mM이었다. Fig. 3에 예들 든 세포에서는 TEA에 의해 지속성 외향성 전류가, 4-AP에 의해서는 일과성 전류가 감소하였다. +30 mV의

전압을 줄 때 외향성 전류는, 20 mM TEA와 8 mM 4-AP에 의해 대조군의 22±3.6% (n=6)로 감소하였다. 이와 같이 K⁺ 통로 차단제에 의해 외향성 전류가 현저히 감소하는 점 또한 외향성 전류가 K⁺ 전류임을 뒷바침해 주고 있다.

한편, K⁺ 통로 차단제를 처리한 후에도 남은 전류의 꼬리전류도 측정해 보았다. TEA 20 mM을 처리한 후 남은 전류의 역전전압은 -66±3.1 mV (n=3)로 처리 전의 그것과 차이가 없었다. TEA 20 mM과 4-AP 8 mM을 함께 처리한 후 남은 전류의 역전전압은 -60±3.4 mV (n=4)

A. Tail Currents



B. Reversal Potentials

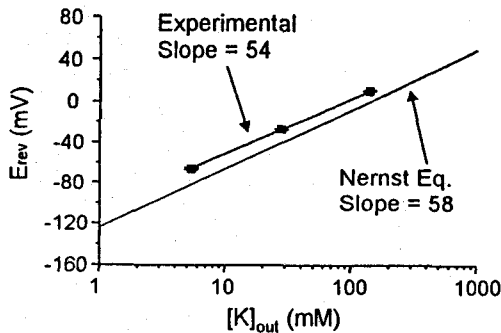
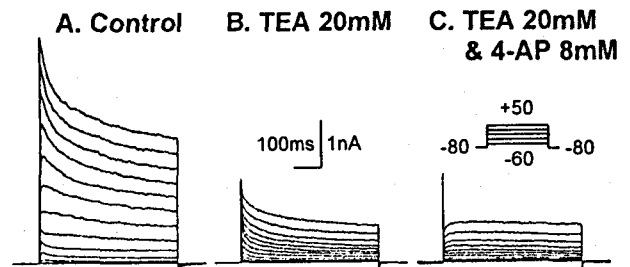


Fig. 2. Tail currents and reversal potentials of voltage-gated outward current. A. Tail currents were obtained at return voltages after +40 mV step pulse. Amplitudes of return voltage are indicated at the end of the first and the last current traces. Increments of return voltage were 15 mV. The arrow heads indicate the zero-current level. With capacitive transient currents excluded, the tail currents were fit by first exponential function and the fit curves were extrapolated to the start of return voltage. Intracellular potassium concentration was 140 mM in all cases and extracellular concentrations were 5.4 mM, 28 mM, or 140 mM. B. Reversal potentials were calculated using the extrapolated instantaneous tail currents. Theoretical Nernst E_K are -82 mV, -41 mV, and 0 mV when extracellular potassium are 5.4 mM, 28 mM, and 140 mM, respectively. Experimental reversal potentials were -66 ± 1.1 mV (n=6), -27 ± 0.3 mV (n=5), and +10 ± 0.5 mV (n=6), at each concentration. Reversal potentials were plotted against extracellular potassium concentrations in log scale. The slope of straight line obtained experimentally (54 mV) was close to theoretical slope of Nernst equation, 58 mV.



D. I-V Relationship

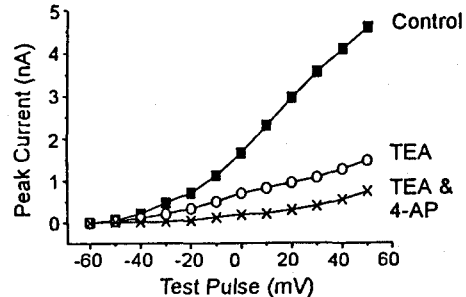


Fig. 3. The effect of potassium channel blockers on voltage-gated outward currents. A. Outward currents were evoked during 500 msec voltage steps of which amplitude varied from -60 mV to +50 mV with 10 mV increment. The holding potential was -80 mV, which was close to Nernst E_K, -82 mV. The pulse protocol and scale bar shown in B or C were common to A, B, and C. Note that the control current had both transient component and delayed rectifier component. B. 20 mM tetraethyl ammonium (TEA) remarkably reduced the delayed rectifier component. C. Transient current was decreased at additional application of 8 mM 4-aminopyridine (4-AP). D. Peak currents of the cell in A, B, and C were plotted against test voltages. Filled square represents the control current, open circle the TEA-treated current, and cross segments the TEA- and 4-AP-treated current. Peak current, on the average, was decreased to 22 ± 3.6% (n=6) of control current in the presence of both 20 mM TEA and 8 mM 4-AP.

로 역시 처리 전과 크게 달라지지 않았다. 이러한 점은 K⁺ 통로 차단제에 의해 감소된 전류와 감소되지 않은 전류가 모두 같은 이온에 의한 전류라는 점을 말해준다. 그리고 이들 전류의 역전전압이 모두 Nernst E_K에 가까우므로 두 경우 모두 주로 K⁺에 의한 전류임을 시사해준다.

이 남은 전류는 이들 차단제에 의해 완전히 차단되지 않는 K⁺ 전류로 보여진다.

지속성 전류, I_{Ke}

지속성 전류는 I_{Ke} (early inactivating)와 I_{Kl} (late inactivating), 모두 두종류가 관찰되었다. I_{Ke}는 한 세포에서 그 혼자만이 발현되기도 했고, 뒤에 언급할 일과성 K⁺ 전류의 하나인 I_{Ai} (intermediate inactivation kinetics)나 I_{As} (slowly inactivating) 또는 이들 둘과 함께 발현되기도 했으며, I_{Kl}과 함께 나타나는 경우도 있었다. I_{Ke}를 다른 K⁺ 전류와 완전히 분리할 수 없었으므로 이 전류에 대한 특성조사는 I_{Ke}만을 발현하는 세포를 대상으로 실시하였다. I_{Ke}는 2초간의 -100 mV 전펄스에 의해 완전히 활성화될 수 있었다(Fig. 4A). 활성화된 전류는 500 msec 동안 약간

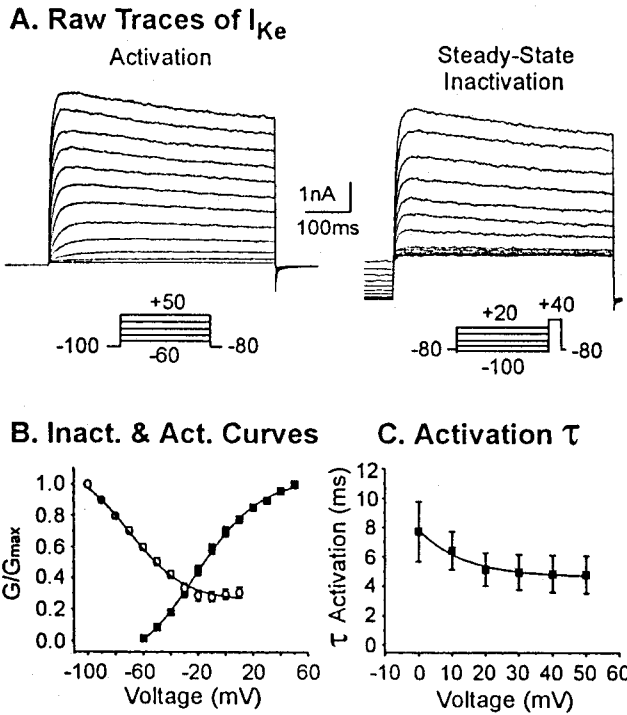


Fig. 4. Characteristics of I_{Ke}. A. Potassium currents were evoked during 500 msec voltage steps preceded by 2 sec prepulse of -100 mV. The cell was held at -80 mV, which was near the calculated reversal potential of potassium (-86 mV). The steady state inactivation was estimated from peak currents evoked by 480 msec and +40 mV pulse after 5 sec prepulses of which amplitudes were varied from -100 mV to +20 mV with 10 mV increment. B. Activation (filled square, n=4) and inactivation (open circle, n=5) curves of I_{Ke}. For activation curve, membrane conductance (G) was calculated from the ratio of peak current to driving force, I_{peak}/(V_m-E_K), and plotted against the pulse voltage. For steady state inactivation curve, amplitudes of peak current at test pulse were plotted against the amplitudes of prepulse voltage. Two curves were well fit by a Boltzmann function. The half-change voltage (V_{1/2}) were -22 mV and -70 mV for activation and inactivation, respectively. C. Activation time constants were obtained from single exponential fits of rising phase of I_{Ke} and plotted against the activating voltage (n=3). The inactivation time constant showed voltage dependency with e-fold change in 13 mV.

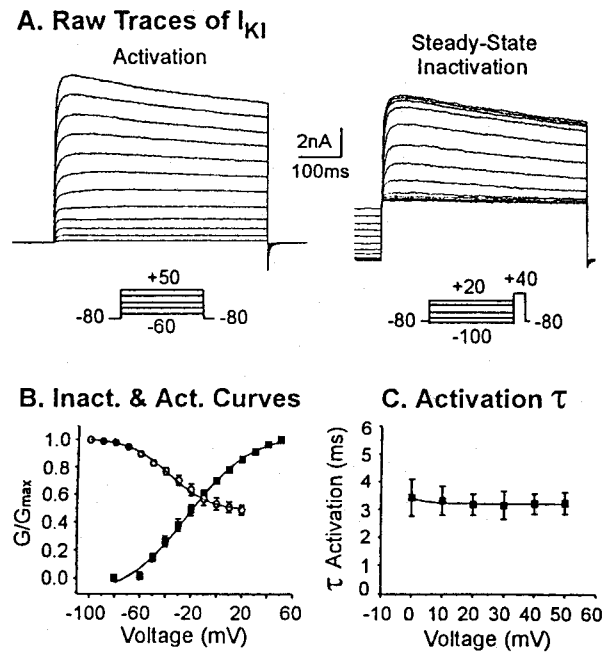


Fig. 5. Characteristics of I_{Kl}. A. Potassium currents were evoked from -80 mV holding potential with no prepulse. The voltage protocol for steady state inactivation was the same as that in Figure 4A. B. Activation (filled square, n=8) and inactivation (open circle, n=12) curves of I_{Kl}. The curves were plotted with the same methods as in Figure 4B. V_{1/2} were -22 mV and -37 mV for activation and inactivation, respectively, when fit by a Boltzmann function. C. Activation time constants were obtained from single exponential fits of rising phase of I_{Kl} and plotted against the activating voltage (n=4). The inactivation time constant showed voltage dependency with e-fold change in 4.7 mV.

의 시간의존성 비활성화도 보였다. 항정상상태 비활성화는, 유지전압 -80 mV 도중 5초간의 전펄스를 준 후 480 msec 동안 $+40$ mV로 K^+ 전류를 활성화시켜서 구하였다. 전펄스는 -100 mV부터 $+20$ mV까지 10 mV 간격으로 증가시켰다. I_{K_e} 와 I_{K_l} 을 구분하는 가장 큰 특징은, I_{K_e} 의 항정상상태 비활성화가 I_{K_l} 보다 더 과분극 범위에서 시작되어 역시 더 과분극 범위에서 끝난다는 점이다. Fig. 4B에서 보듯이 -100 mV부터 항정상상태 비활성화가 시작되어 -20 mV가 되면 최소값에 도달한다. 이를 볼츠만 함수에 근사시켜보면 절반변화전압이 -70 mV이고 기울기요소는 20 mV이었다. 활성화 곡선에서 막전도도는, 각 전압에서 활성화된 최대전류를 막기전력 ($V_m - E_K$)으로 나누어서 구했다. 활성화 곡선은 절반변화전압이 -22 mV, 기울기요소가 24 mV인 볼츠만 함수에 근사되었다.

Fig. 4에서 보듯이 항정상상태 비활성화 곡선이 최소값에 도달한 후에도 비활성화되지 않고 남아 있는 부분이 있었다. 이 전류가 I_{K_e} 중에서 비활성화 되지 않는 성분인지, 아니면 I_{K_e} 와는 다른 또다른 K^+ 전류인지는 본 실험에서는 알 수 없었다.

전류가 활성화되는 부분을 1차 지수함수로 근사시켰을 때 얻은 활성화 시정수는 Fig. 4C에 나타나 있다. 활성화 시정수는 0 mV에서 7.7 ± 2.0 msec ($n=3$), $+50$ mV에서 4.8 ± 1.3 msec ($n=3$)의 값을 보였고, 13 mV 마다 e배의 변화를 갖는 전압의존성을 나타냈다.

지속성 전류, I_{K_l}

또다른 지속성 전류인 I_{K_l} (late inactivating)은 -80 mV에서도 비활성화되지 않았으므로 전펄스 없이 유지전압

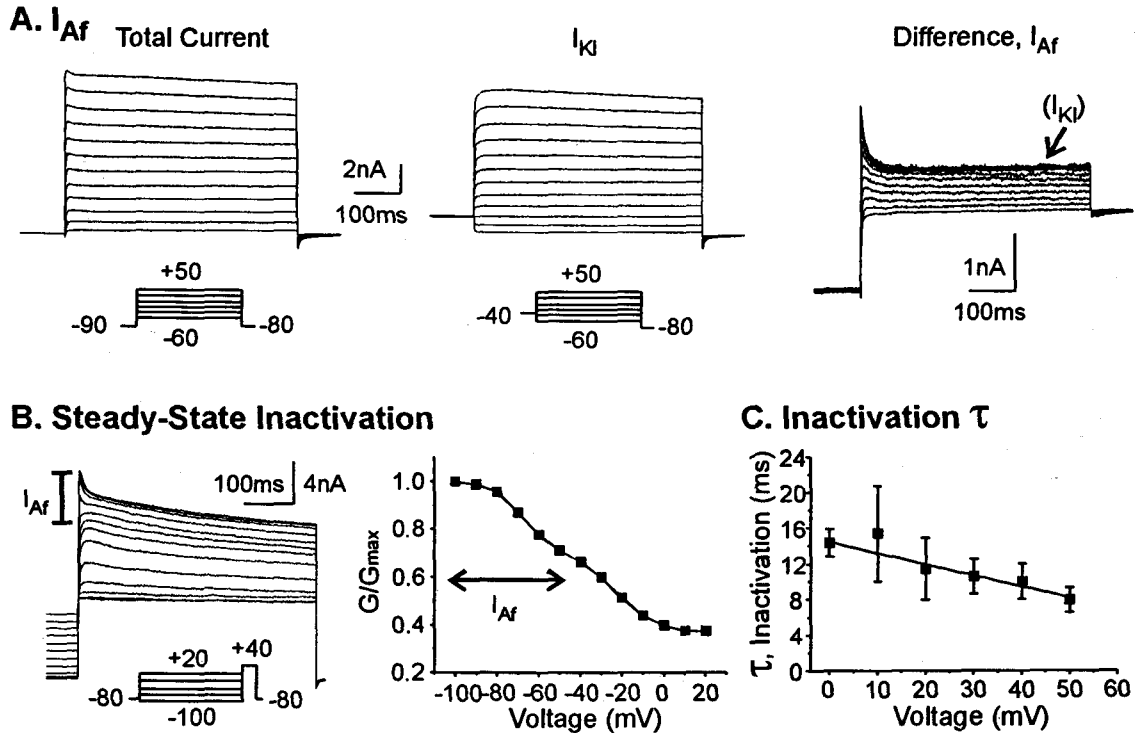


Fig. 6. Characteristics of I_{Af} . A. Potassium currents were evoked during 500 msec voltage steps preceded by 2 sec prepulse of either -90 mV or -40 mV. The cell was held at -80 mV, which was near the Nernst E_K (-86 mV). Total potassium currents were evoked from -90 mV prepulse and I_{K_l} was from -40 mV prepulse. The difference of these two sets of current was I_{Af} . Note that, in this cell, I_{Af} could not be well separated from I_{K_l} . The arrow indicates the contamination of I_{K_l} . B. A representative example of steady state inactivation of I_{Af} . The voltage protocol for steady state inactivation was the same as that in Figure 4A. The peak current was sampled at 7 msec from the start of test pulse. I_{Af} was subject to inactivate between -100 mV and -50 mV as pointed with an arrow. C. Inactivation time constants were obtained from single exponential fits of fast inactivating portion (from its peak to 30 msec) of I_{Af} , that is, the difference currents, and plotted against the activating voltage ($n=4$). The inactivation time constant showed voltage dependency with e-fold change in 1750 mV.

-80 mV에서 단계전압을 주어 활성화시켰다(Fig. 5A). I_{Ki}은 I_{Af}와 함께 발현되는 경우가 가장 많았고, I_{Ke}, I_{Ai}, 또는 I_{As}와도 함께 발현되었으며, I_{Ki} 혼자 나타나는 세포도 있었다. I_{Ki}과 I_{Af}는 전기적으로 전펄스에 의해 분리될 수 있었으므로 이 둘을 발현하는 세포도 I_{Ki}만을 갖는 세포와 함께 성질조사 대상으로 이용하였다. I_{Ki}이 I_{Ke}와 가장 크게 다른 점은 항정상상태 비활성화 성질이였다. Fig. 5B에서 보듯이 I_{Ke}보다는 더 저분극된 범위인 -70 mV부터 비활성화가 시작되어 +10 mV가 되어야 최소값에 도달하였다. 볼츠만 함수에 의해 근사된 곡선은 -37 mV의 절반변화전압과 16 mV의 기울기요소를 가졌다. 반면, 활성화 특성은 I_{Ke}와 비슷하여서, 절반변화전압이 -22 mV, 기울기요소가 24 mV인 볼츠만 함수에 근사되었다. 항정상상태 비활성화 곡선에서 최소값에 도달한 후에도 비활성화되지 않고 남아 있는 부분이 역시 관찰되었다. 이 전류가 I_{Ki} 중에서 비활성화 되지 않는 성분인지, 아니면 I_{Ki}과

는 다른 또다른 K⁺ 전류인지는 본 실험에서는 알 수 없었다.

전류가 활성화되는 부분을 1차 지수함수로 근사시켰을 때 얻은 활성화 시정수는 Fig. 5C에 나타나 있다. 활성화 시정수는 0 mV에서 3.4±0.7 msec (n=4), +50 mV에서 3.2±0.4 msec (n=4)의 값을 보였고, 4.7 mV 마다 e배의 변화를 갖는 전압의존성을 나타냈다.

일과성 전류, I_{Ai}

일과성 K⁺ 전류 중 시간의존적인 면에서 가장 빠르게 비활성화되는 전류를 I_{Af} (fast inactivating)로 명명하였다. I_{Af}는 모든 경우에서 I_{Ki}과 함께 발현되었다. -90 mV의 전펄스를 2초간 주어서 I_{Af}를 완전히 활성화시킬 수 있었고, -40 mV의 전펄스로 비활성화시킬 수 있었으므로, 이들 두 조건에서 얻은 전류의 차이를 I_{Af}로 보았다 (Fig. 6A). 그러나 I_{Af}가 비활성화되는 구간에서 I_{Ki}도 약간의

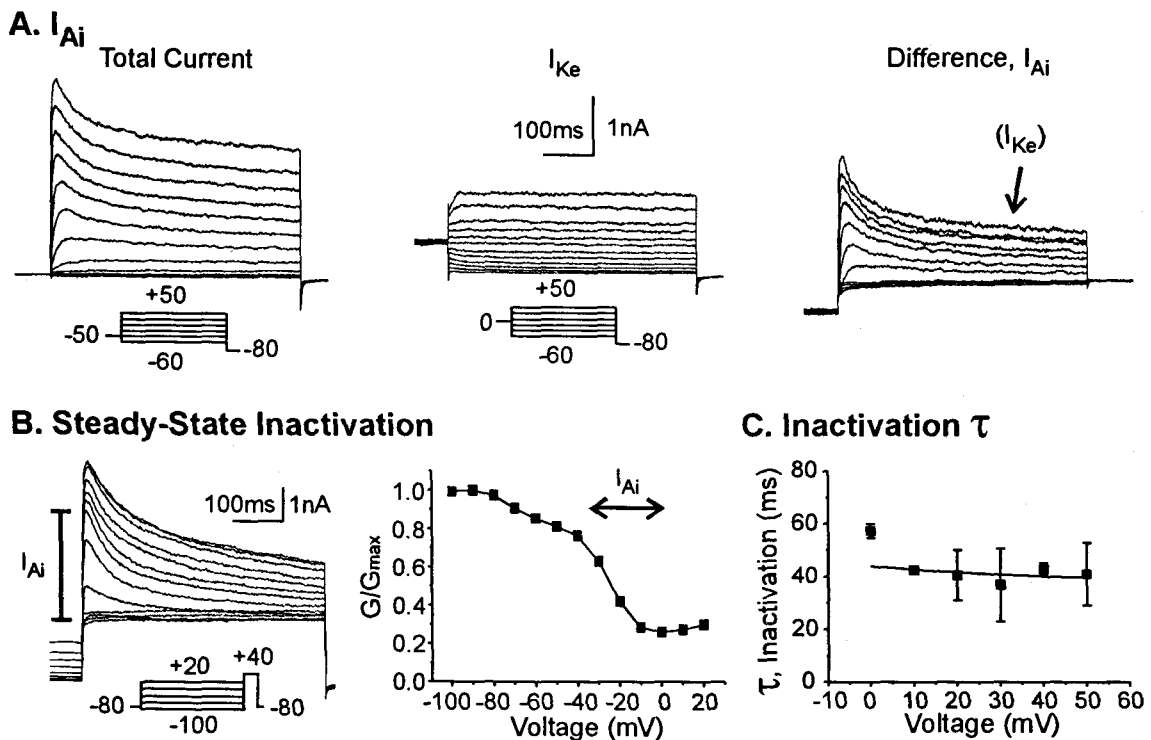


Fig. 7. Characteristics of I_{Ai}. A. Potassium currents were evoked during 500 msec voltage steps preceded by 2 sec prepulse of either -50 mV or 0 mV. The cell was held at -80 mV, which was near the Nernst E_K (-86 mV). Total potassium currents were evoked from -50 mV prepulse and I_{Ke} was from 0 mV prepulse. The difference of these two sets of current was I_{Ai}. In this cell, I_{Ai} could not be well separated from I_{Ke}. (the arrow, contamination of I_{Ke}) B. A representative example of steady state inactivation of I_{Ai}. The voltage protocol for steady state inactivation was the same as that in Figure 4A. The arrow from -40 mV to 0 mV indicates the inactivation of I_{Ai}. C. Inactivation time constants were obtained from single exponential fits of the difference current, or I_{Ai}, from its peak to 150 msec, and plotted against the activating voltage (n=2). The inactivation time constant showed voltage dependency with e-fold change in 46 mV.

비활성화를 겪으므로 I_{Af} 만을 완전히 분리해 낼 수는 없었다(Fig. 6A 오른쪽). 일과성 전류는 지속성 전류와는 뚜렷이 구분되는 시간의존성 비활성화를 보였으므로 I_{K1} 이 다소 섞여 있었어도 비활성화 역학을 알아보는 자료로 활용하는 데는 문제가 없었다. I_{Af} 는 20~30 msec 동안 완전히 비활성화되는 양상을 보였다. Fig. 6B에는 항정상상태 비활성화의 한 예를 나타내었는데, 전펄스 -90 mV부터 -50 mV까지 일과성 전류 I_{Af} 가 모두 비활성화됨을 뚜렷이 볼 수 있다. 함께 활성화된 지속성 전류의 항정상상태 비활성화 양상은 I_{K1} 의 그것과 같으므로 이 지속성 전류가 I_{K1} 임을 알 수 있었다. 물론 -90 mV부터 -50 mV까지의 전펄스에 의해 비활성화되는 전류 중에는 I_{K1} 도 있으나 시간의존성 비활성화 양상으로부터 I_{Af} 의 항정상상태 비활성화 구간을 알 수 있었다. 활성화 곡선은 구할 수 없었는데 이는 I_{Af} 가 I_{K1} 과 함께 활성화 되기 때문이었다. 시간의존성 비활성화의 시정수를 알아보기 위해 차이

전류 (difference current, Fig. 6A 오른쪽)를 1차 지수함수로 근사시켰다. I_{K1} 의 영향을 최대한 배제하기 위하여 빠르게 비활성화되는 부분인, 전압자극 시작 후 30 msec까지의 구간만 근사하였다. 비활성화 시정수는 0 mV에서 14.4 ± 1.5 msec ($n=4$), +50 mV에서 7.9 ± 1.4 msec ($n=4$)의 값을 보였고, 1750 mV 마다 e배의 변화를 갖는 전압의존성을 나타냈다.

일과성 전류, I_{Ai}

시간의존성 비활성화 측면에서 볼 때, I_{Af} 보다는 느리고 I_{As} 보다는 빠른 비활성화를 겪는 일과성 전류가 관찰되었는데, 이를 I_{Ai} (intermediate inactivation kinetics)라 명명하였다. I_{Ai} 는 혼자만 발현되는 경우는 없었고 I_{Ke} 혹은 I_{K1} 과 함께, 또는 I_{Ke} , I_{As} 와 함께 발현되었다. I_{Ai} 의 항정상상태 비활성화 구간은 -50 mV부터 0 mV까지이므로, -50 mV와 0 mV의 전펄스를 2초간 주어서 활성화시킨 전류

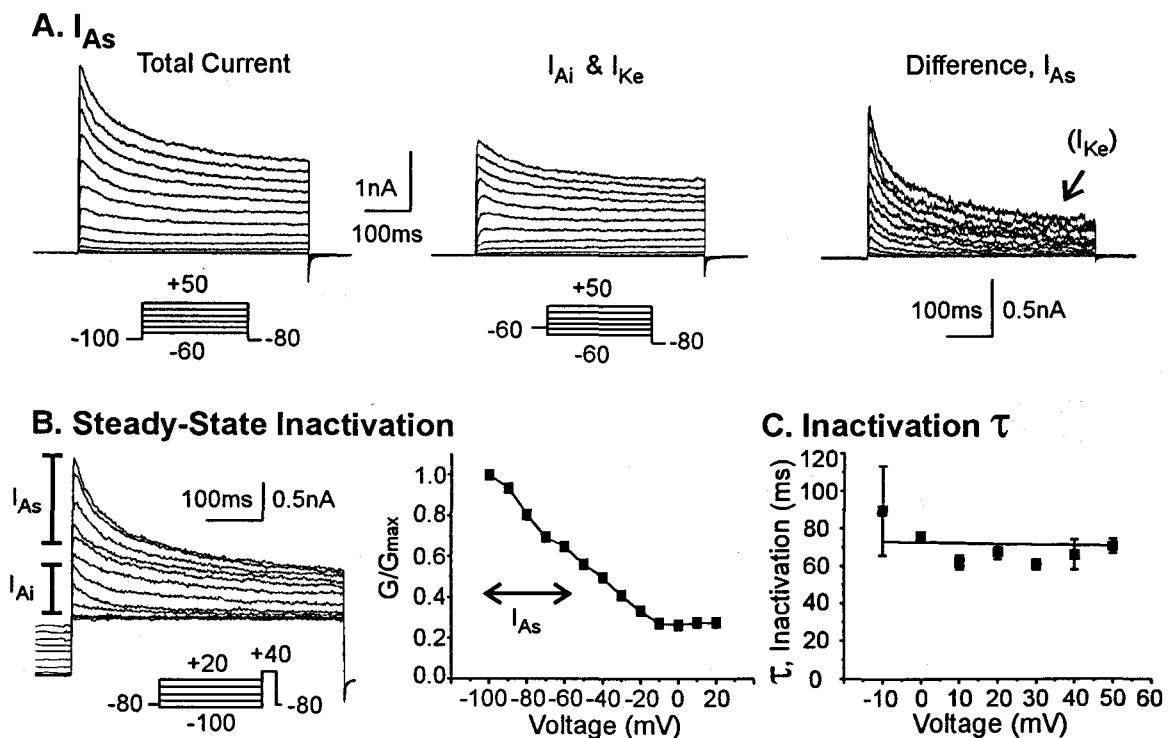


Fig. 8. Characteristics of I_{As} . A. Potassium currents were evoked during 500 msec voltage steps preceded by 4 sec prepulse of either -100 mV or -60 mV. The cell was held at -80 mV, which was near the Nernst E_K (-86 mV). This cell expressed I_{Ke} , I_{Ai} and I_{As} . I_{As} could be separated, though slight contamination of I_{Ke} was inevitable, from I_{Ke} and I_{Ai} by inactivating I_{As} with -60 mV prepulse. Total currents were obtained with -100 mV prepulse. B. A representative example of steady state inactivation of I_{As} . The voltage protocol for steady state inactivation was the same as that in Figure 4A. Note the sequential inactivation of I_{As} , from -100 to -60 mV, and I_{Ai} , from -40 to -10 mV. C. Inactivation time constants were obtained from single exponential fits of the difference current, or I_{As} , from its peak to 200 msec, and plotted against the activating voltage ($n=4$). The inactivation time constant showed voltage dependency with e-fold change in 280 mV.

의 차이로 I_{Ai}를 구하였다(Fig. 7A). I_{Ai}도 I_{Ke}와 항정상상태 비활성화구간이 겹쳐 완전히 분리할 수는 없었다. I_{Ai}는 100~200 msec 동안 비활성화되었는데, 이러한 비활성화는 지속성 전류와 뚜렷이 구분되었으므로 I_{Ke}가 다소 섞여 있었어도 비활성화 역학을 알아보는 자료로 활용할 수 있었다. I_{Ai}의 항정상상태 비활성화의 한 예를 Fig. 7B에 나타내었다. -50 mV부터 0 mV 사이에서 일과성 전류가 비활성화됨을 알 수 있다. 이 구간 동안 I_{Ke} 성분도 함께 비활성화되었으나 시간의존성 비활성화 특징으로부터 I_{Ai}의 항정상상태 비활성화 구간을 알 수 있었다. 이 세포에서 I_{Ai}와 함께 발현되었던 지속성 전류의 항정상상태 비활성화 특성은 I_{Ke}의 그것과 비슷하였다.

차이전류 (Fig. 7A 오른쪽)를 1차 지수함수로 근사시켜서 시간의존성 비활성화의 시정수를 알아보았다. I_{Ke}의 영향을 최대한 배제하기 위하여 전압자극 시작 후 150 msec까지의 구간만 근사하였다. 비활성화 시정수는 0 mV에서 57.4±2.6 msec (n=2), +50 mV에서 40.9±11.9 msec (n=2)의 값을 보였고, 46 mV 마다 e배의 변화를 갖는 전압의존성을 나타냈다.

일과성 전류, I_{AS}

Fig. 8의 A와 B에서 예를 든 세포는 I_{Ke}, I_{Ai}와 함께 I_{AS} (slowly inactivating)를 발현하고 있었다. I_{AS}는 I_{Ke}와 I_{Ai} 모두, 혹은 I_{Ke}와 함께, 혹은 I_{Kl}과 함께 발현되었다. I_{AS}와 I_{Ai}

는 비활성화 전압구간이 겹치지 않으므로 전펄스에 의해 분리될 수 있었다 (Fig. 8A). 전펄스 -100 mV를 4초간 주어서 모든 K⁺ 전류를 활성화시키고 -60 mV의 전펄스를 4초간 주어서 I_{AS}를 비활성화시켜서, 그 차이로서 I_{AS}를 얻었다. I_{AS}는 세가지 일과성 K⁺ 전류 중 가장 느린 시간의존성 비활성화를 보여서 200~300 msec 동안 비활성화가 진행되었다. I_{Ke}와는 비활성화 전압구간이 겹치므로 완전히 분리해 낼 수는 없었으나, I_{Ai}와는 분리가 가능하여서 비활성화 역학을 알아 보는데는 문제가 없었다. Fig. 8B에서는 Fig. 8A 세포의 항정상상태 비활성화를 나타내었다. I_{AS}는 -100 mV부터 -60 mV까지 비활성화되므로 I_{Ai}와는 -50 mV를 경계로 확연히 구분되었다. 이 구간 동안 I_{Ke} 성분도 함께 비활성화되었으나 시간의존성 비활성화 특징으로부터 I_{AS}의 항정상상태 비활성화 구간을 알 수 있었다. 지속성 전류는 I_{Ke}의 항정상상태 비활성화 양상을 보이고 있다.

차이전류 (Fig. 8A 오른쪽)를 1차 지수함수로 근사시켜서 시간의존성 비활성화의 시정수를 알아보았다. I_{Ke}의 영향을 최대한 배제하기 위하여 전압자극 시작 후 200 msec까지의 구간만 근사하였다. 비활성화 시정수는 0 mV에서 75.8±1.2 (n=4), +50 mV에서 70.5±3.9 msec (n=4)의 값을 보였고, 280 mV 마다 e배의 변화를 갖는 전압의존성을 나타냈다.

Table 1. Combination of potassium currents in each cell and characteristics of each cell type. Nine types of DRG cell were observed among 46 cells when determined by their potassium current combination. §, reference value for Student's *t*-test; *, *p*<0.005. Capsaicin sensitivity means generation of non-selective cationic current. The concentration of capsaicin was 30 μM. Action potential duration was measured at half-peak voltage. Capsaicin sensitivity was tested with extracellular major cation 140 mM NMDG and 5.4 mM K⁺, and current clamp experiment was performed with extracellular major cation 140 mM Na⁺. See 'Method' for detailed extracellular ionic composition

Combination of Currents in Each Cell	I _{Kl}	I _{Ke}	I _{Ke}	I _{Ke}	I _{Kl}	I _{Ke}	I _{Kl}	I _{Ke}	I _{Kl}
	I _{Af}		I _{Ai}						
Number of Cells Observed	15	9	8	4	3	3	2	1	1
Cell Diameter (μm) (mean ± SE)	32 ± 4.6 §	23 ± 4.7*	21 ± 2.4*	24 ± 7.7	27 ± 8.7	21 ± 3.6*	30 ± 0.0	20	30
Capsaicin Sensitivity (cells/cells)		3/4	0/5	0/1	0/2	0/2			
Action Potential Duration (msec) (mean ± SE)		4.5 ± 1.5 (n=5)	2.8 (n=1)	4.4 (n=1)	1.5 ± 0.4 (n=2)	2.4 ± 0.2 (n=2)	3.2 (n=1)	4.0 (n=1)	

K⁺ 전류에 따른 세포의 종류

한 세포에서 관찰되는 K⁺ 전류의 종류에 따라 모두 아홉가지 유형의 세포로 나눌 수 있었다. I_{Ke} 혹은 I_{KI}만을 발현하는 세포, 이들 둘 모두 발현하는 세포, I_{Ke}와 I_{Ai}, I_{Ke}와 I_{As}, I_{KI}과 I_{Af}, I_{KI}과 I_{Ai}, I_{KI}과 I_{As}를 발현하는 세포, I_{Ke}, I_{Ai}, I_{As}를 모두 발현하는 세포 등이다 (Table 1). 가장 많이 관찰된 세포는 I_{KI}과 I_{Af}를 갖는 세포로서 총 46개의 세포 중 15개였다. 세포의 평균지름이 가장 큰 종류 역시 I_{KI}과 I_{Af}를 갖는 세포였는데 32±4.6 μm의 지름을 가졌다. 이 세포와 비교해 볼 때 통계적으로 의미있을 정도의 (Student's *t*-test, *p*<0.005) 작은 지름을 가진 세포는 I_{Ke}만을 발현하는 세포와 I_{Ke}, I_{Ai}, I_{As} 모두를 발현하는 세포, I_{Ke}와 I_{KI}을 발현하는 세포 등 세 종류였다. 이들의 세포지름은 각각 23±4.7 μm (n=9), 21±2.4 μm (n=8), 21±3.6 μm (n=3)였다.

모두 14개의 세포, 다섯 종류의 세포군에 30 μM 캡사이신을 세포외에 처리해 보았다. 이들 세포군 중에서 I_{Ke}만을 발현하는 세포만이 캡사이신에 의해 비선택적 양이온전류를 발생시켰다. I_{Ke}만을 발현하는 세포군 중에서는 네 개의 세포 중 세 개의 세포가 캡사이신에 대해 반응하였다. 세포외 용액 중 NMDG를 Na⁺ 140 mM로 바꾼 조건에서 200 pA의 전류자극을 주어 활동전압을 기록해 보았다. 모두 13개의 세포, 7종류의 세포군에서 기록한 후, 정점의 절반되는 곳의 활동전압 길이 (half-peak duration)를 측정하였다. 이들 중 가장 긴 활동전압을 보이는 세포군은 I_{Ke}만을 발현하는 세포였는데, 다섯 세포의 평균 활동전압 길이가 4.5±1.5 msec이었다. 이 밖에도, 측정 세포수가 적긴 하지만 (n=1), I_{Ke}와 I_{Ai}를 발현하는 세포와 I_{Ke}와 I_{As}를 발현하는 세포가 각각 4.4 msec, 4.0 msec의 긴 활동전압을 갖는 것으로 나타났다.

고 찰

본 실험에서 알아본 바로는 신생원뿔의 척수후근신경절 세포에는 지속성 K⁺ 전류가 최소한 두가지, 일과성 K⁺ 전류가 세가지 있는 것으로 관찰되었다. 이들의 종류 및 개개의 성질은 이전에 보고된 성체원뿔의 척수후근신경절 세포의 그것 (Gold et al, 1996b)과 크게 다르지 않았다. 여기서 관찰된 I_{Ke}는 그들이 관찰한 I_{KI}와, I_{KI}은 I_{KII}와, I_{Ai}는 I_{AII}와, I_{Af}는 역시 I_{Af}와, I_{As}는 그들의 I_{As}와 그 생리학적 성질이 거의 일치하여 이들이 같은 종류의 전류라고 생각된다. 성체원뿔 척수후근신경절에서 관찰한 K⁺ 전류의 성질을 일부 살펴보면 (Gold et al, 1996b), 비활성화

시정수는 +30 mV에서 I_{Af}가 8.4±0.6 msec, I_{AII}가 26.1±3.4 msec, I_{As}가 52±4.7 msec였다. 비활성화 곡선의 절반 변화전압은 I_{KI}가 -64 mV, I_{KII}가 -35.1 mV, I_{Af}가 -57.0 mV, I_{As}가 -82.5 mV였고 I_{AII}는 본 실험과 유사한 조건에서 기록한 데이터가 없어서 비교가 어려웠다. 역전전압은 Nernst 식에 의한 E_K보다 12 mV에서 22 mV 정도 저분극된 값을 갖는다고 하였다. 이상과 같은 성체원뿔 척수후근신경절 세포에서의 결과 (Gold et al, 1996b)는 본 실험에서 관찰한 신생원뿔의 그것과 거의 일치하였다.

그들의 보고에 의하면 (Gold et al, 1996b) I_{KII}는 Cs⁺에 대한 투과성을 보인다고 했으나, 본 실험에서 관찰한 바는 그들의 결과와는 다르게 나타났다 (관련자료 미제재). 세포내 K⁺를 Cs⁺으로 대체했을 경우, 그들이 관찰한 I_{KII}는 -60 mV부터 +45 mV까지의 단계전압에서 내향성 전류를 나타내지 않았고, 활성화된 전류는 시간의존성 비활성화가 없었다. 그러나 본 실험에서는 -60 mV부터 -20 mV까지의 자극전압에서 내향성 전류가 관찰되었고, 활성화된 전류는 시간의존성 비활성화를 보였다. 따라서 본 실험에서는 Cs⁺ 투과성 전류가 I_{KI} 전류와 같은 전류인지 동정할 수 없었다. 더구나 Cs⁺ 투과성 전류의 역학적 성질이 세포마다 동일하지는 않아서 Cs⁺이 오직 한 종류의 통로, 즉 I_{KI}의 통로에만 투과성을 갖지 않을 수도 있으리라 생각된다. 이렇게 Cs⁺에 대한 투과성이 다르게 관찰된 것이 성숙개체와 신생개체와의 차이인지 대해 현재로서는 결론을 내리기 힘들다. 기록조건의 차이에 의한 것으로는 보여지지 않는데 그 이유는 다음과 같다. 기록조건을 살펴볼 때 주목할 만한 차이점으로 본 실험에서는 (mM 단위) 2.3 Mg²⁺, 0.1 Cd²⁺을, 그들의 경우 0.6 Mg²⁺, 2.5 Co²⁺를 사용했다는 점이다. 그러나 2가 양이온의 변화가 지속성 K⁺ 전류의 성상에 영향을 주지는 않는 것으로 알려져 있고 (Mayer & Sugiyama, 1988; Gold et al, 1996b), 본 실험에서 Cd²⁺의 존재여부가 Cs⁺ 투과성 전류의 성질에 거의 영향을 주지 않는 것으로 관찰되었다.

본 실험에서는 I_{Ke}만을 발현하는 세포가 유해감수기 (nociceptor)의 특징을 강하게 가지고 있었다. 캡사이신에 대해 비선택적 양이온전류를 일으킨 세포가 네 개 중 세 개였고, 활동전압의 길이도 가장 길었다. 활동전압의 길이가 길다는 점과 세포의 크기가 작다는 점이 유해감수기의 한가지 특징이라고 볼 때 (Harper & Lawson 1985; McLean et al, 1988; Scroggs et al, 1994), I_{Ke}와 I_{Ai}를 발현하는 세포와 I_{Ke}와 I_{As}를 발현하는 세포도 유해감수기일 가능성이 있다고 할 수 있다. 그러나 그 관찰빈도가 적고 캡사이신에 의한 효과를 측정하지 못했거나 측정예수 (n=1)가 적으므로 확언을 할 수는 없다고 본다.

Gold 등 (1996b)에 의하면 성체흰쥐의 경우, 본 실험의 I_{Ai}에 해당하는 I_{Aht}를 발현하는 세포가 유해감수기의 특징을 가장 강하게 가지고 있어서, 41개의 세포 중 39개에서 활동전압 어깨가 나타났고 25개 세포 중 23개가 캡사이신에 반응한다고 하였다. 그리고 I_{As} 또는 I_{Ki} (본 실험의 I_{Ke}에 해당)는, I_{Aht}만큼 강한 관련성은 없지만, 유해감수기의 특징을 갖는 세포에 선택적으로 발현된다고 하였다. 이와 비교해 볼 때, I_{Ai}와 I_{As}에 대해서는 통계적 불확실성이 있긴하지만, I_{Ke}, I_{As}, I_{Ai}가 유해감수기에 발현되는 K⁺ 전류라는 점은 성체쥐와 신생쥐의 공통점인 듯하다. 그러나 본 실험에서는 캡사이신에 대한 반응과 활동전압의 길이로 볼 때, I_{Ke}, I_{As}, I_{Ai}가 모두 발현되는 세포들은 유해감수기의 특징을 갖지 않았다. 따라서 Gold 등 (1996b)의 주장과 같이 전류 개개의 종류에 초점을 맞추어 I_{Ke}나 I_{As} 또는 I_{Ai}가 발현되는 세포가 유해감수기라고 할 수는 없을 듯하고, I_{Ke}만을 발현하는 세포, 또는 I_{Ke}와 I_{Ai}를 발현하는 세포, I_{Ke}와 I_{As}를 발현하는 세포만이 유해감수기일 가능성이 있다고 해야 할 것이다.

한편, 신생 감각세포와 성체 감각세포에 있어서 캡사이신에 의해 유발되는 세포의 활성화에는 큰 차이가 없다는 논의가 있다 (Szolcsanyi & Jancso-Gabor, 1975; Wood et al, 1988; Simone et al, 1989; Dray et al, 1990; Dray & Dickenson, 1993). 이러한 점은, 신생흰쥐와 성체흰쥐의 척수후근신경절 세포의 K⁺ 전류 종류에 큰 차이가 없고, 유해감수기로 추정되는 세포의 K⁺ 전류 분포에도 큰 차이가 없다는 본 실험의 결과와 일맥상통한다고 할 수 있다. 따라서, 생후 1~10 일 정도의 흰쥐에서는 이미 각종 K⁺ 전류의 분화와 유해감수기의 K⁺ 전류 분포에 관한 발달이 거의 이루어져 있으리라 생각된다.

감사의 글

본 연구는 '95~97 과학기술처 특정연구 생명공학기술개발사업 (Biotech 2000) B-02-08-A-03 및 보건복지부 No. HNP-96-M-2-1041의 지원으로 수행되었다.

참 고 문 헌

- Amedee T, Ellie E, Dupouy B, Vincent JD. Voltage-dependent calcium and potassium channels in Schwann cells cultured from dorsal root ganglia of the mouse. *J Physiol (Lond)* 441: 35–56, 1991
- Baumann TK, Simone DA, Shain CN, LaMotte RH. Neurogenic hyperalgesia: the search for the primary cutaneous afferent fibers that contribute to capsaicin-induced pain and hyperalgesia. *J Neurophysiol* 66(1): 212–227, 1991
- Campbell DT. Large and small vertebrate sensory neurons express different Na and K channel subtypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 89(20): 9569–9573, 1992
- Cobbett P, Legendre P, Mason WT. Characterization of three types of potassium current in cultured neurones of rat supraoptic nucleus area. *J Physiol (Lond)* 410: 443–462, 1989
- Del Mar LP, Cardenas CG, Scroggs RS. Capsaicin preferentially affects small-diameter acutely isolated rat dorsal root ganglion cell bodies. *Exp Brain Res* 111: 30–34, 1996
- Dray A, Bettaney J, Forster P. Actions of capsaicin on peripheral nociceptors of the neonatal rat spinal cord-tail in vitro: dependence of extracellular ions and independence of second messengers. *Br J Pharmacol* 101(3): 727–733, 1990
- Dray A, Dickenson A. Capsaicin, nociception and pain. In: Wood JN ed, *Capsaicin in the study of pain*. Academic Press, London, p239–253, 1993
- Florio SK, Westbrook CD, Vasko MR, Bauer RJ, Kenyon JL. Transient potassium currents in avian sensory neurons. *J Neurophysiol* 63(4): 725–737, 1990
- Foster RW, Ramage AG. The action of some chemical irritants on somatosensory receptors of the cat. *Neuropharmacology* 20(2): 191–198, 1981
- Fyffe REW. Afferent fibers. In: Davidoff RA ed, *Handbook of the Spinal Cord. Anatomy and Physiology*. Dekker, New York, Vols. 2 & 3, p. 79–136, 1983
- Gold MS, Reichling DB, Shuster MJ, Levine JD. Hyperalgesic agents increase a tetrodotoxin-resistant Na⁺ current in nociceptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 93(3): 1108–1112, 1996a
- Gold MS, Shuster MJ, Levine JD. Characterization of six voltage-gated K⁺ currents in adult rat sensory neurons. *J Neurophysiol* 75(6): 2629–2646, 1996b
- Harper AA, Lawson SN. Conduction velocity is related to morphological cell type in rat dorsal root neurones. *J Physiol (Lond)* 359: 31–46, 1985
- He X, Schmidt RF, Schmittner H. Effects of capsaicin on articular afferents of the cat's knee joint. *Agents Actions* 25(3-4): 222–224, 1988
- Kenins P. Responses of single nerve fibres to capsaicin applied

- to the skin. *Neurosci Lett* 29(1): 83–88, 1982
- Kostyuk PG, Veselovsky NS, Fedulova SA, Tsyndrenko AY. Ionic currents in the somatic membrane of rat dorsal root ganglion neurons - III. Potassium currents. *Neuroscience* 6(12): 2439–2444, 1981
- Mayer ML, Sugiyama K. A modulatory action of divalent cations on transient outward current in cultured rat sensory neurones. *J Physiol (Lond)* 396: 417–433, 1988
- McFarlane S, Cooper E. Kinetics and voltage dependence of A-type currents on neonatal rat sensory neurons. *J Neurophysiol* 66(4): 1380–1391, 1991
- McLean MJ, Bennett PB, Thomas RM. Subtypes of dorsal root ganglion neurons based on different inward currents as measured by whole-cell voltage clamp. *Mol Cell Biochem* 80(1-2): 95–107, 1988
- Pearce RJ, Duchon MR. Differential expression of membrane currents in dissociated mouse primary sensory neurons. *Neuroscience* 63(4): 1041–1056, 1994
- Safronov BV, Bischoff U, Vogel W. Single voltage-gated K^+ channels and their functions in small dorsal root ganglion neurones of rat. *J Physiol (Lond)* 493(Pt 2): 393–408, 1996
- Scroggs RS, Fox AP. Calcium current variation between acutely isolated adult rat dorsal root ganglion neurons of different size. *J Physiol (Lond)* 445: 639–658, 1992
- Scroggs RS, Todorovic SM, Anderson EG, Fox AP. Variation in I_H , I_{IR} , and I_{LEAK} between acutely isolated adult rat dorsal root ganglion neurons of different size. *J Neurophysiol* 71(1): 271–279, 1994
- Seno N, Dray A. Capsaicin-induced activation of fine afferent fibres from rat skin in vitro. *Neuroscience* 55(2): 563–569, 1993
- Simone DA, Baumann TK, LaMotte RH. Dose-dependent pain and mechanical hyperalgesia in humans after intradermal injection of capsaicin. *Pain* 38(1): 99–107, 1989
- Szolcsanyi J. Selective responsiveness of polymodal nociceptors of the rabbit ear to capsaicin, bradykinin and ultraviolet irradiation. *J Physiol (Lond)* 388: 9–23, 1987
- Szolcsanyi J, Anton F, Reeh PW, Handwerker HO. Selective excitation by capsaicin of mechano-heat sensitive nociceptors in rat skin. *Brain Res* 446(2): 262–268, 1988
- Szolcsanyi J, Jancso-Gabor A. Sensory effects of capsaicin congeners I. Relationship between chemical structure and pain-producing potency of pungent agents. *Arzneimittelforschung* 25(12): 1877–1881, 1975
- Valmier J, Simonneau M, Boisseau S. Expression of voltage-dependent sodium and transient potassium currents in an identified sub-population of dorsal root ganglion cells acutely isolated from 12-day-old mouse embryos. *Pfluegers Arch* 414(3): 360–368, 1989
- Wood JN, Winter J, James IF, Rang HP, Yeats J, Bevan S. Capsaicin-induced ion fluxes in dorsal root ganglion cells in culture. *J Neurosci* 8(9): 3208–3220, 1988
- Yaksh TL, Hammond DL. Peripheral and central substrates involved in the rostral transmission of nociceptive information. *Pain* 13: 1–85, 1982
- Yoshimura N, White G, Weight FF, de Groat WC. Different types of Na^+ and A-type K^+ currents in dorsal root ganglion neurones innervating the rat urinary bladder. *J Physiol (Lond)* 494(Pt 1): 1–16, 1996
-