

원 저

만성통증을 억제하는 전침효과의 말초성 기전과 아편양물질수용기에 관한 연구*

신홍기, 이서은, 박동석¹⁾

한양대학교 의과대학 생리학교실, 경희대학교 한의과대학 침구학교실¹⁾

Study on Peripheral Mechanism and Opioid Receptors Implicated in Electroacupuncture-induced Inhibition of Chronic Pain

Hong-Kee Shin, Seo-Eun Lee, Dong-Suk Park¹⁾

Department of Physiology, College of Medicine, Hanyang University,
Department of Acupuncture and Moxibustion, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University¹⁾

Objective : The central opioid mechanism of acupuncture analgesia has been fairly well documented in acute behavioral experiments, but little electrophysiological study has been performed on the peripheral mechanism and subtypes of opioid receptors responsible for acupuncture-induced antinociception in chronic animal models. In the present electrophysiological experiment, we studied the peripheral mechanism and opioid receptor subtypes which were implicated in electroacupuncture-induced antinociception in the rat with chronic inflammatory and neurogenic pain.

Methods : In the rat with complete Freund's adjuvant-induced inflammation and spinal nerve injury, dorsal horn cell responses to afferent C fiber stimulation were recorded before and after electroacupuncture (EA) stimulation applied to the contralateral Zusanli point for 30 minutes. Also studied were the effects of specific opioid receptor antagonists and naloxone methiodide, which can not cross the blood-brain barrier, on EA-induced inhibitory action.

Results : EA-induced inhibitory action was significantly attenuated by naloxone methiodide, suggesting that EA-induced inhibition was mediated through peripheral mechanism. Pretreatment, but not posttreatment of naltrexone and spinal application significantly blocked EA-induced inhibitory actions. In inflammatory and neurogenic pain models, μ - and δ -opioid receptor antagonists (β - funaltrexamine & naltrindole) significantly reduced EA-induced inhibitory action, but κ -opioid receptor antagonist had weak inhibitory effect on EA-induced antinociception.

Conclusion : These results suggest that 2Hz EA-stimulation induced antinociceptive action is mediated through peripheral as well as central mechanism, and mainly through μ - and δ -opioid receptors. (*J Korean Oriental Med 2003;24(3):108-117*)

Key Words: Chronic pain model, Dorsal horn cell response, Afferent C fiber stimulation, Electroacupuncture, Peripheral mechanism, Opioid receptor subtypes

서 론

- 접수 : 2003년 5월 2일 · 논문심사 : 2003년 5월 12일
- 채택 : 2003년 6월 30일
- 교신저자 : 신홍기, 서울시 성동구 행당동 17 한양대학교 의과대학 생리학교실
(Tel: 02-2290-0612, Fax: 02-2281-3603 E-mail: shinhg@hanyang.ac.kr)
- 본 연구는 2001년도 보건복지부 한방치료기술 개발사업 지원 연구비에 의하여 수행되었음 (HMP-00-CO-01-0001)

침자극의 효과는 매우 다양하지만 자극의 강도, 빈도 및 기간등의 자극 매개변수^{1,2)}, 동물실험의 경우에는 마취상태³⁾와 동물의 종(種)³⁾, 그리고 하행성 억제계를 포함한 뇌조직내 cholecystokinin의 농도와 환경

적 요인⁴⁾ 등, 여러 가지 요소에 의해 침효과가 크게 변동된다고 알려져 있다. 특히 침자극은 통증을 억제하여 진통효과를 유발한다는 사실은 잘 알려져 있으나, 진통효과가 유발되는 기전에 대한 연구결과는 완전히 일치되지 않는다.

침점에 procaine과 xylocaine 같은 국소마취제를 주사하거나 구심성 신경을 절단한 후에 침자극을 시행하면 침효과가 나타나지 않는다는 연구결과는⁵⁾ 침효과가 신경을 통해 매개됨을 시사하지만 침효과를 매개하는 신경섬유는 $A\beta$ 및 $A\delta$ 신경섬유라는 주장과 자극역치가 높은 $A\delta$ 와 C신경섬유라는 두가지 견해가 있다. Anodal blocking법을 이용하여 $A\beta$ 및 $A\delta$ 신경을 차단한 후에는 침자극효과가 소실될 뿐만 아니라, 효과가 크게 나타나는 침점 일수록 보다 많은 수의 $A\beta$ 신경섬유가 분포하고 있으며, 침점주위조직의 혈류차단에 의해 발생한 허혈(ischemia)로 인하여 $A\beta$ 신경섬유가 선택적으로 차단되면 침효과가 거의 완전히 소실된다고 주장한 Lu(1983)⁶⁾의 실험결과는 직경이 큰 유수신경섬유에 의해 침자극효과가 전달됨을 시사한다. 한편 capsaicin을 구심성 신경에 적용하여 $A\delta$ 및 C신경섬유의 기능을 차단하면 Jaw-opening reflex를 억제하는 침효과가 나타나지 않지만 capsaicin을 처리하지 않은 반대쪽에서는 침효과가 나타나며⁶⁾ 침자극의 효과는 자극강도가 강할수록 보다 강력하고 지속적이라는 보고들은¹³⁾ 자극 역치가 높은 $A\delta$ 신경과 무수섬유인 C신경섬유를 통해 침자극 효과가 유발됨을 시사한다.

침점의 자극에 의해 생긴 입력신호가 구심성 신경을 통하여 중추로 전달되면 여러 부위가 활성화되지만, 특히 척수후각, 봉선핵(raphe nuclei), 뇌수도관주위 회색질(periaqueductal gray matter), 시상, 및 시상하부 등 통각유발과 통증억제에 관련된 부위의 신경세포가 활성화된다고 알려져 있다⁷⁾. 또한 통각의 하행성 억제계의 주요 통로라고 알려진 척수의 배측섬유속(dorsolateral funiculus;DLF)을 절단하면 침효과가 완전히 차단된다고⁷⁾ 한다. 이와 같은 연구 결과는 침자극으로 인해 생긴 구심성 입력에 의해 통각의 하행성 억제계가 활성화되면 척수의 배측섬유속을

통하여 척수후각세포로 전달된 억제성 기전에 의해 통각신호가 중추로 전달되지 못하고 차단되는 것으로 해석된다.

침자극에 의해 활성화된 통각의 하행성 억제계에 의해 진통효과가 유발되는 기전은 주로 아편양물질에 의해 매개된다는 많은 연구결과가 보고되었다. 북경대학 침마취연구단은(1974)⁸⁾ 침자극에 의해 진통효과가 유발된 토끼의 뇌실에서 채취한 뇌척수액을 침자극을 받지 않은 다른 토끼의 뇌실내로 투여하면 진통효과가 유발된다는 연구결과로부터 침진통효과는 체액성 요소(humoral factor)에 의해 매개될 것이라고 제의하였다. 그 후 계속된 많은 연구에서 전침자극후 뇌척수액 내 β -endorphin의 농도와 통각역치가 증가될 뿐만 아니라¹⁰⁾ 정맥 혹은 뇌척수액내로 아편양 물질수용기의 길항제를 투여하면 침자극에 의해 유발된 진통효과가 유의하게 약화됨^{11,13)} 구명한 연구결과들은 침진통효과가 아편양 물질에 의해 매개됨을 시사한다. 또한 Han 등(1984)¹⁴⁾은 토끼에서 열자극에 대한 회피반응을 통각의 지표로 이용한 실험에서 족삼리의 전침자극에 의해 유발된 진통효과는 뇌수도관주위 회색질내로 Met-enkephalin과 β -endorphin의 항체를 투여하면 유의하게 약화된다고 보고하였다. 한편 Peets와 Pomeranz(1978)¹⁵⁾ 침진통효과의 유발과정에서 아편양물질의 역할을 알아보기 위하여 아편양물질 수용기가 현저하게 많은 C57BL/6By계 생쥐와 아편양 물질수용기가 결여된 CXBK계 생쥐를 이용하여 저빈도의 전침자극이 열자극에 대한 뒷자리의 회피반응에 미치는 영향을 조사한 실험에서 C57BL/6By계 생쥐에서는 전침자극 후 강력한 진통효과가 유발되었으며, 이 효과는 naloxone 투여에 의해 차단되었으나 CXBK생쥐에서는 전침자극에 의해 유발된 진통효과가 매우 미약할 뿐만 아니라 naloxone의 영향을 받지 않는다고 하였다.

전침자극에 의한 진통효과를 규명한 대부분의 실험에서는 행동으로 나타나는 반응을 통각의 지표로 이용한 급성통증모델에서 아편양물질에 의해 진통효과가 유발된다는 보고는 있으나 실제 임상에서 중요한 문제가 되는 만성통증모델을 이용한 실험에서 침

진통효과에 관여하는 아편양물질 수용기의 subtype을 밝힌 연구는 없었다. 또한 침진통효과가 유발되는 중추성 기전에 대한 연구는 많이 수행되었으나 말초성 기전에 대한 연구는 찾아 볼 수 없었다. 본 실험에서는 염증 및 신경손상에 의한 만성통증모델 흰쥐에서 뇌혈액장벽을 통과하지 못하는 naloxone methiodide를 이용하여 침진통효과의 말초성 기전을 밝히고 침진통효과를 유발한다고 알려진 아편양물질의 subtype을 규명하고자 한다.

실험 재료 및 방법

건강한 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐(200 -350 gm) 134마리를사용하였으며 만성 염증성 및 신경성 통증군으로 나누어 실험하였다. 실험동물은 물과 먹이가 충분히 공급되며 약 23℃로 실내온도가 유지되고 12 시간 주기로 조명이 조절되는 동물실에서 7일 이상 적응시킨다음 실험에 사용되었다. Enflurane(3%, 중외제약)마취하에 흰쥐의 뒷발바닥에 complete Freund's adjuvant (CFA, Sigma)와 생리적 식염수를 1:1의 비율로 희석한 혼합액 0.2ml를 피하주사하여 만성통증을 유발하였다. 또한 신경성 통증모델을 제작하기 위해서는 Enflurane(3%)마취하에 제 5번 및 6번 척수신경을 3번 봉합사로 결찰한 후 절단하였다. 정상흰쥐에서 von Frey hair를 이용하여 측정된 기계적 자극역치는 46.5gm 이상이었으나 CFA를 피하주사하거나 신경손상후 2-3주에는 기계적 자극역치가 평균 2.2gm이하로 감소되어 이질통(allodynia)이 발생한 개체만 선택하여 침효과를 전기생리학적으로 규명하는 실험에 사용하였다.

CFA의 피하주사 혹은 척수신경손상에 의해 통각과민증이 유발된 흰쥐를 enflurane(3%)으로 마취한 후 외경정맥에 polyethylene관(PE-60, Becton Dickinson, U.S.A)을 연결하였으며 수술이 완료된 후 척수후각세포의 반응을 기록하는 동안은 enflurane의 농도를 1.5%로 유지하였다. 실험동물의 호흡은 기도를 절개한 후 인공호흡기 (Harvard Apparatus, Model 683)에 연결하여 end-tidal CO₂ 농도가 3.5-4.5%가 되도록

호흡횟수와 일회호흡량을 조절하였으며, 수술로 인하여 야기되는 체액의 손실을 방지하고 아울러 근육을 마비시키기 위해서는 생리적 식염수에 d-tubocurarine chloride (0.3mg/kg/hr, Sigma)를 혼합한 용액을 외경정맥에 연결된 관을 통하여 계속 주입하였다. 실험동물의 체온은 homeothermic blanket system (Harvard Apparatus)을 이용하여 일정하게 (37℃) 유지하였다. 제13흉추와 제3요추 사이의 척수와 슬와(poplital fossa)부위의 경골신경 및 총비골신경을 분리 노출시킨 후 말초구심성 신경의 전기자극에 의하여 활성화되는 척수후각세포의 반응을 기록하기 위한 목적으로 사용하였다. 이상의 수술이 완료된 후 실험동물을 뇌정위장치에 고정하였으며, 노출된 신경조직의 건조를 방지하기 위해서는 액체 파라핀 풀을 만들었다.

경골신경과 총비골신경의 자극에 의하여 유발된 cord dorsum potential이 최대로 기록되는 척수부위에 carbon filament 미세전극을 서서히 삽입하면서 말초구심성 신경의 자극에 의해 활성화되는 척수후각세포의 single activity를 기록한 후 수감영역에 가해진 각종 기계적 자극(bush, pressure 및 pinch)에 대한 반응을 기준으로 하여 세포형을 결정하였다. 본 실험에서는 약한 자극과 유해자극에 모두 반응하는 wide dynamic range(WDR)세포만 사용하였다. C신경섬유를 포함한 모든 신경섬유를 활성화시킬 수 있는 강도의 자극 4개를 연속적으로 가하는 4 train stimuli (0.5msec, 50Hz)를 10번 가하였으며, 이 때 유발된 WDR세포의 activity를 누적시켜 histogram을 작성하였다. 자극의 강도는 train stimuli를 말초구심성 신경에 가할 때 histogram상에 C신경의 자극에 의해 유발된 활동전위가 나타나기 시작하는 역치강도(1T)의 배수로 표시하였으며, 일정한 크기의 WDR세포반응을 유발하기 위해서는 2-5T강도의 자극이 필요하였다. 본 실험에서는 느린 A δ 신경 및 C신경섬유의 자극에 의해 유발된 WDR세포의 반응을 통각의 지표로 사용하였다.

전침자극효과를 관찰하기 위해서는 신경손상 혹은 염증에 의해 이질통이 유발된 반대쪽 뒷다리의 족삼

리(足三里)와 족삼리보다 약 5-6mm 아랫쪽 측면에 약 5mm 깊이로 침을 삽입한 후 전기자극기(WPI, A300 pulsemaster)로 자극하였다. 자극매개 변수는 C 신경섬유반응을 지속적으로 억제한다고 알려진 양극형(bipolar)의 저빈도자극(2Hz)을 30분간 가하였으며 자극강도는 3mA, 자극과 지속시간은 1msec로 하였다²⁾.

신경손상군 및 염증이 유발된 흰쥐에서 느린 A δ 신경 및 C신경섬유의 자극에 의해 유발된 WDR세포의 대조반응을 기록한 후 30분간 전침자극을 시행하였다. 전침자극 직후와 그후 60분까지 WDR세포반응의 변동상을 기록하여 비교하였다. 전침자극의 억제효과가 중추성 기전 이외에 말초수용기에 의해 매개되는지를 알아보기 위해서는 뇌혈액장벽(blood-brain barrier)을 통과하지 못하는 아편양물질수용기 길항제인 naloxone methiodide(0.5mg/kg, Sigma)를 정맥주사한후 전침자극에 의해 유발된 억제효과를 비교하였으며 전침자극의 말초효과를 관찰한 실험에서는 구심성신경 대신에 말초 수감영역을 전기자극하여 유발된 C신경섬유반응을 기록하여 비교했다. 한편 전침자극에 의해 유발된 억제효과가 척수 혹은 척수 이상의 고위중추중 어느 부위에서 유발되는지를 확인하기 위해서는 아편양물질 수용기 길항제인 naltrexone을 전침자극을 가하기 전과 후에 정맥주사(0.5mg/kg) 하거나 척수에 직접 작용한후에 관찰된 척수후각세포반응의 변동상을 비교하였다. 또한 저빈도 전침자극의 억제효과를 매개하는 아편양물질수용기의 subtype을 규명하기 위해서는 전침자극을 가하기 전에 μ -수용기 길항제인 β -funaltrexamine hydrochloride(β -FNA, Sigma), δ -수용기 길항제인 naltrindole hydrochloride(Sigma), 및 κ -수용기 길항제인 nor-binaltorphimine dihydrochloride(nor-BNI, Sigma)를 척수에 직접 적용한후 전침자극을 시행하였으며, 이때 나타난 척수 후각세포 반응의 변동상을 기록하여 비교하였다.

이상의 모든 실험에서 유발된 WDR세포의 activity 변동은 preamplifier(WPI, DAM80)로 증폭한 다음 window discriminator로 원하는 activity만 선별하여 computer에 입력시켜 poststimulus time histogram을

작성하였다. 유발된 반응의 크기는 세포에 따라 차이가 크기 때문에 전침자극전 대조반응의 백분율로 표시하였으며 ANOVA 및 Newman-Keuls test (SPSS 10.0 program, SPSS Inc.)를 이용하여 계산한 *p*값이 0.05보다 작을 때 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다.

실험 결과

구심성 신경의 자극에 의해 활성화되며 말초수감 영역이 확인된 WDR세포는 척수표면으로 부터 약 500~1000 μ m의 깊이에 위치하였으며, 본 실험에서는 A신경섬유뿐만 아니라 C신경섬유의 입력까지 받는 WDR세포반응을 통각의 지표로 하였다.

전침자극에 의해 유발된 통각 억제효과가 말초성 기전에 의해서도 매개되는지를 알아보기 위하여 뇌혈액장벽을 통과하지 못하는 naloxone methiodide를 전처치한 후 전침자극에 의해 유발된 효과를 기록한 실험에는 그림1과 같으며, 그림2는 전침자극후 30분까지의 효과를 비교한 결과이다. WDR세포의 C신경섬유반응은 (그림1A) 전침자극 후 대조반응의 $61.1 \pm 3.2\%$ 로 현저하게 억제되어 (그림1B) 전침자극 중단 후 30분 까지도 $60.2 \sim 67.3\%$ 범위내에서 큰 변화 없이 지속되었다(그림2). 전침자극 후 10분에 대조반응의 $60.2 \pm 2.4\%$ 까지 억제된 WDR세포의 C신경섬유반응은 뇌혈액장벽을 통과하는 naltrexone (N=8)과 뇌혈액장벽을 통과하지 못하는 naloxone methiodide (N=11)를 전처치한 후 시행한 전침자극에 의해 각각 대조반응의 $84.4 \pm 3.9\%$ 와 $78.1 \pm 4.7\%$ 로 억제되었다(그림2). 이와 같은 실험결과는 척수와 그 이상의 고위중추뿐만 아니라 말초조직내 아편양물질 수용기에 의해서도 전침의 억제효과가 매개됨을 시사한다.

한편 전침자극에 의한 억제효과가 척수수준에서도 매개되는지를 알아보기 위하여 척수표면에 직접 naltrexone용액을 적용한 후 전침자극을 시행한 결과는 그림3과 같다. 30분 동안 전침자극을 시행한 직후 WDR세포반응은 대조반응의 $61.1 \pm 3.2\%$ 로 억제되었으며 그 후 10분 후에는 $60.2 \pm 2.4\%$ 로 약간 더 억

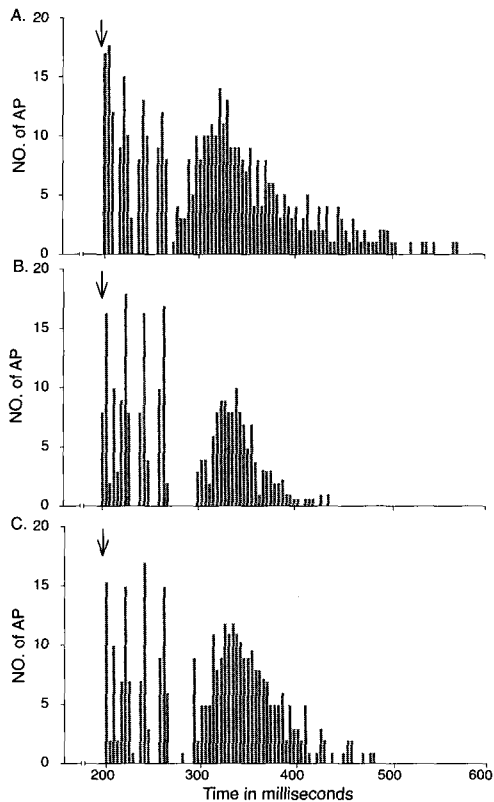


Fig. 1. Peripheral effect of electroacupuncture(EA). Arrows indicate the time at which train stimuli were applied to afferent nerves. A is the control responses of wide dynamic range (WDR) cells to stimulation of afferent nerves in the receptive field before EA stimulation. In B, EA stimulation suppressed WDR cell responses to C fiber stimulation. However, EA-induced inhibitory effect was significantly reduced in the rat pretreated with naloxone methiodide (0.5mg/kg, i.v.)(C).

제되는 듯 하였으나 20분 및 30분 후에는 각각 대조 반응의 $62.3 \pm 3.1\%$ 및 $67.3 \pm 2.7\%$ 로 큰 변화없이 억제 효과가 유지되었다. 그러나 척수표면에 직접 naltrexone 용액을 적용한 동물에서 (N=6) 전침 자극을 시행한 직후와 10분, 20분 및 30분후 WDR 세포 반응은 각각 대조반응의 $83.0 \pm 4.4\%$, $89.7 \pm 2.0\%$, $88.9 \pm 8.1\%$ 및 $93.4 \pm 11.0\%$ 로 감소됨으로 보아 전침 효과 중 상당한 양이 척수에서 매개됨을 알 수 있다.

만성통증이 유발된 흰쥐의 척수후각세포 반응에

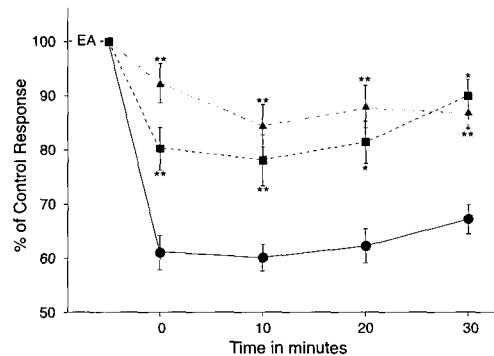


Fig. 2. Peripheral mechanism of electroacupuncture(EA)-induced inhibitory action on the responses of wide dynamic range (WDR) cells to afferent C fiber stimulation in the rat with chronic inflammation. 2Hz EA stimulation without any pretreatment produced strong and sustained inhibition of WDR cell responses (—●—). However, pretreatment of naltrexone (---▲---) and naloxone methiodide (---■---) significantly attenuated the inhibitory effects of EA on WDR cell responses. Each value is represented as mean \pm SE. *, $p < 0.05$, **, $p < 0.005$, significant difference from EA-induced inhibitory action (—●—).

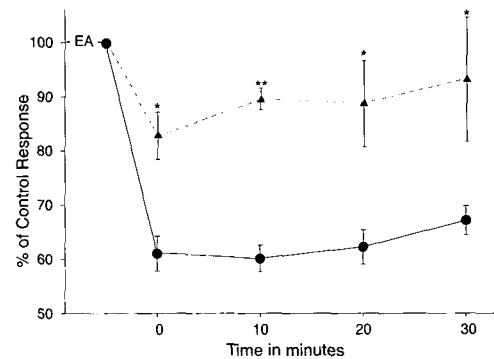


Fig. 3. Spinal mechanism of electroacupuncture(EA)-induced antinociceptive action in the rat with chronic inflammation. The responses of WDR cells to afferent C fiber were greatly inhibited by EA-stimulation (—●—). However, this inhibitory action of EA-stimulation was significantly reduced after spinal application of naltrexone (---▲---). *, $p < 0.005$, **, $p < 0.001$, significant difference from EA-induced inhibitory action (—●—).

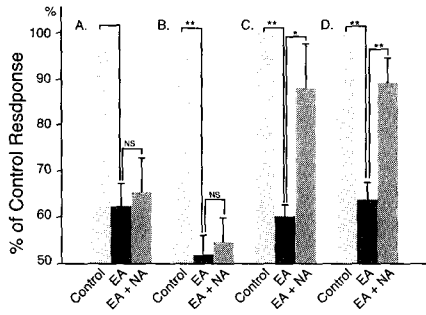


Fig. 4. In the rats with chronic inflammation(A & C) and nerve injury(B & D), 2Hz electroacupuncture(EA) stimulation produced strong inhibition of WDR cell responses to afferent C fiber stimulation(EA in A, B, C & D). This EA-induced inhibitory action was significantly blocked after pretreatment (EA+NA in C & D), but not posttreatment (EA+NA in A & B) of rats with naltrexone(NA). Each value is represented as mean \pm S.E. *, $p < 0.005$, **, $p < 0.001$, significant difference from the control(C) and EA-induced inhibition(EA). NS, no significant difference.

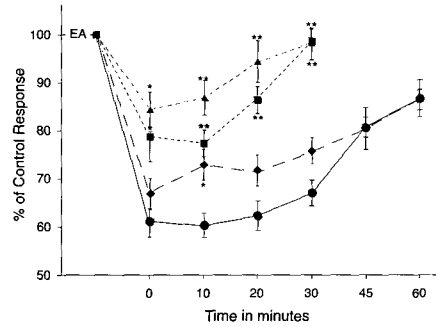


Fig. 5. Electroacupuncture(EA)-induced strong inhibitions of WDR cell responses(—●—) were significantly attenuated by the pretreatment of β -funaltrexamine(—▲—) and naltrindole(—■—). However, pretreatment of κ -opioid antagonist(naloxone, —◆—) caused significant reduction of inhibition induced by EA-stimulation only at time point of 10 minutes after EA-stimulation. *, $p < 0.05$, **, $p < 0.001$, significant difference from EA-induced inhibitory action(—●—).

대한 전침효과가 아편양물질 수용기의 길항제를 전 처치 혹은 후처치하였을 때 어떻게 변동되는지를 알아 보기 위하여 만성 염증이 유발된 흰쥐와 제5번 및 6번 척수신경이 손상된 흰쥐에서 척수후각세포의 대 조반응을 기록한 후 전침자극 시행전에 naltrexone을 정맥내로 투여한 경우와(그림4 C 및 D) 전침자극에 의해 WDR세포의 C신경섬유반응이 억제되었음을 확인한 후 naltrexone의 투여에 (그림4 A 및 B)의해 유발된 반응의 변동을 요약한 결과는 그림4와 같다. 전침자극에 의해 염증성 및 신경성통증이 유발된 흰 쥐 WDR세포의 C신경섬유반응은 각각 대조반응의 $60.2 \pm 2.4\%$ 와 $63.8 \pm 3.7\%$ 까지 억제되었으나 naltrexone을 전처치한 후 시행한 전침자극에 의해서 는 각각 대조반응의 $88.0 \pm 9.1\%$ (그림4 C, N=9) 및 $89.4 \pm 5.2\%$ (그림4D, N=9)로 억제되었으며, 이는 전 침의 억제효과가 naltrexone의 전처치에 의해 약화됨 을 시사한다. 그러나 WDR 세포의 C신경섬유반응은 naltrexone을 투여하기전에 시행한 전침자극에 의해서 는 대조반응의 $62.3 \pm 4.8\%$ (그림4A, N=9) 및 $51.7 \pm 4.4\%$ (그림4B, N=7)로 억제 되었으나 전침자극에

의해 WDR 세포 반응이 억제된 직후에 투여한 naltrexone에 의해서는 전침자극의 억제효과가 차단 되지 아니하였다.

염증 및 신경손상에 의해 만성통증이 유발된 흰쥐 에서 전침자극에 의해 척수후각세포의 C신경섬유 반응이 억제되는 기전에 관여하는 아편양물질 수용 기의 subtype을 알아보기 위하여 μ , δ - 및 κ -아편양 물질수용기의 길항제를 각각 전처치한 후 전침자극 에 의해 유발된 WDR세포반응의 변동상을 요약한 결과는 그림5와 그림6에서 보는 바와 같다. 염증성 만성통증이 유발된 흰쥐의 WDR 세포반응은 (N=9) 전침자극 직후 대조반응의 $61.1 \pm 3.2\%$ 로 억제된 후 큰 변화없이 유지되다가 30분 후 (대조반응의 $67.0 \pm 2.7\%$)부터 서서히 회복되어 60분 후에는 대조반응의 $86.7 \pm 3.9\%$ 로 회복되었다. 한편 μ -아편양물질 수용기 의 길항제인 β -FNA (N=9)와 δ -수용기 길항제인 naltrindole-용액을 (N=11)척수에 직접 적용한 후에는 전침자극 직후 WDR세포의 C신경섬유반응이 각각 대조반응의 $84.1 \pm 4.3\%$ 와 $78.7 \pm 5.1\%$ 로 억제 되었 으며, 전침자극 중단 후 30분에는 대조반응의 $98.0 \pm$

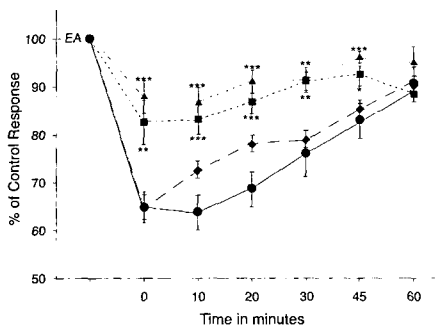


Fig. 6. Pretreatment of β -funaltrexamine (---▲---) and naltrindole (---■---) significantly attenuated electroacupuncture(EA)-induced inhibitory action(—●—) on WDR cell responses, but the effect of κ -opioid receptor antagonist, nor-binaltorphimine(—◆—) on EA-induced inhibitory action was very weak and not significant. *; $p < 0.05$, **; $p < 0.005$, ***; $p < 0.001$, significant difference from EA-induced inhibitory action(—●—).

3.4%와 $98.6 \pm 2.6\%$ 로 거의 완전히 회복됨을 알 수 있었다. 이상의 결과는 전침자극의 억제효과가 μ 및 δ -수용기 길항제에 의해 강력하게 차단됨을 시사한다. 그러나 κ -아편양 물질수용기의 길항제인 nor-BNI를 전처치한 경우 (N=7), 전침자극 직후부터 30분까지는 전침자극의 억제효과는 약화되는 경향이었으나 전침자극 후 10분에서만 (대조반응의 $72.9 \pm 3.3\%$) 대조군($62.3 \pm 3.1\%$)과 유의한 차이가 ($p < 0.05$) 인정되었다.

신경성 통증이 유발된 흰쥐에서 얻은 전침자극의 효과는 염증성 통증에 대한 전침효과와 유사하였다(그림6). 전침자극 직후 최대 억제된 WDR세포의 C신경섬유반응(대조반응의 $65.2 \pm 3.2\%$)은 (N=10) 10분, 30분 및 60분 후에는 각각 대조반응의 $63.8 \pm 3.7\%$, $76.1 \pm 4.8\%$ 및 $89.2 \pm 5.5\%$ 로 서서히 회복되었다. μ 및 δ -아편양 물질수용기의 길항제를 전처치한 경우에는 전침자극 후 60분을 제외한 모든 시점에서 전침자극의 억제효과가 대조군에 비해 유의하게 차단되었다. β -FNA (N=11)와 naltrindole(N=10)을 전처치한 흰쥐에서 전침자극 직후 기록된 WDR세포의 반응은 각각 대조반응의 $87.8 \pm 3.3\%$ 및 $82.5 \pm 4.6\%$

로서 대조군에서 유발된 억제효과($65.2 \pm 3.2\%$)보다 유의하게 ($p < 0.001$ 및 $p < 0.005$)약화되었음을 알 수 있다. 그러나 신경손상에 의해 유발된 통증을 억제하는 전침자극의 효과는 κ -아편양 물질수용기의 길항제를 투여해도 유의한 영향을 받지 아니하였다 (N=8). 전침자극 후 10분과 20분에 대조반응의 $63.8 \pm 3.7\%$ 및 $68.7 \pm 3.8\%$ 로 억제된 WDR세포반응은 nor-BNI를 전처치 한 후에는 각각 대조반응의 $72.7 \pm 1.8\%$ 와 $78.2 \pm 1.8\%$ 로 억제되어 전침자극의 억제효과가 약화되는 경향을 나타내었으나 유의한 차이는 아니었다.

고찰

본 실험에서 얻은 결과는 크게 두가지로 요약할 수 있다. 첫째, 만성염증이 유발된 흰쥐에서 전침자극에 의해 유발된 진통효과는 이미 잘 알려진 중추성 기전 뿐만 아니라 말초성 기전에 의해서도 매개된다. 둘째, 염증 및 신경손상에 의해 만성통증이 유발된 흰쥐에서 저빈도의 전침자극에 의해 유발된 진통효과는 아편양물질 수용기 중 주로 μ -수용기와 δ -수용기에 의해 매개되며 κ -수용기는 통계적으로 유의한 효과가 없었다.

뇌혈액장벽을 통과하지 못하는 naloxone methiodide를 먼저 정맥주사한 후 전침자극을 시행하면 WDR세포의 C신경섬유반응에 대한 전침자극의 억제효과가 유의하게 약화된다는 본 실험의 결과는 전침자극의 억제효과가 말초조직에 존재하는 아편양물질 수용기에 의해 매개됨을 시사하며, 특히 만성염증이 유발되면 말초성 기전에 의한 아편양물질의 진통효과가 증가된다고 알려져 있다.

만성염증이 유발되면 후근신경절세포에서는 아편양물질 수용기의 합성이 증가될 뿐만 아니라 구심성 신경의 중추단과 말초단으로 운반되는 수용기도 증가되므로 신경말단에 존재하는 아편양물질 수용기가 증가된다¹⁶⁾. 또한 염증이 유발되면 염증조직의 pH가 산성으로 변할 뿐만아니라¹⁷⁾ cAMP생성양도 증가되어¹⁸⁾ 아편양물질의 효과가 더욱 증가된다. 정상적인 경

우에는 신경세포를 둘러 싸고 있는 외막(perineurium)의 투과성이 매우 낮기 때문에 신경세포에 존재하는 수용기에 아편양물질이 쉽게 접근할 수 없으나 염증이 유발되면 외막의 투과성이 증가되어¹⁹⁾ 아편양물질 수용기에 쉽게 접근할 수 있게 된다. 이와 같은 변화와 함께 자극이 가해지면 염증조직내에 존재하는 단핵구와 림프구를 포함한 면역세포에서 분비되는 아편양물질의 양도 증가되어 말초성기전에 의한 진통효과가 유발될 수 있다. 한편 관절염 환자의 관절강내로 투여한 아편양물질에 의해 진통효과가 유발된다는²⁰⁾ 보고와 흰쥐의 발바닥에 피하주사한 carrageenan에 의해 증가된 c-fos발현도 모르핀의 피하주사에 의해 억제될 뿐만 아니라 모르핀의 효과는 naloxone methiodide의 피하주사에 의해 차단된다는²¹⁾ 연구결과는 아편양 물질은 말초조직내에 존재하는 수용기와 결합하여 그 효과가 매개됨을 뒷받침해 주는 임상연구결과라고 생각된다.

이상에서 서술한 바와 같이 만성염증에 의해 말초조직내로 방출되는 아편양물질과 그 수용기의 수와 activity가 증가되면 말초성 기전에 의해 진통효과가 유발될 수 있는 가능성은 충분히 인정되지만 본 실험의 결과만으로는 전침자극에 의해 말초성 기전이 활성화되는 과정을 설명하기가 매우 어려우며, 앞으로 더욱더 연구되어야 할 것으로 생각된다. 전침자극은 통각의 하행성 억제계를 활성화하여 척수후각에 분포하는 원심성 신경의 말단에서 아편양 물질을 포함한 억제성물질을 분비하게 할 뿐만 아니라^{7,8)} 뇌하수체와 시상하부를 포함한 여러 부위에서 뇌척수액과 혈액내로 분비되는 아편양물질의 양을 증가시킨다고^{7,10,22)} 알려져 있다. 전침자극에 의해 혈액내로 분비되는 아편양 물질의 정확한 농도를 알 수는 없으나 전침자극에 의해 혈액내로 분비되는 아편양물질의 농도가 충분히 높다면 분비된 아편양물질이 염증조직내에 존재하는 많은 수의 수용기와 결합하여 말초성 기전에 의한 진통효과가 유발될 가능성도 완전히 배제할 수는 없다. 본 실험에서는 염증이 유발된 반대쪽의 족삼리를 자극하였지만 염증에 의해 통증이 유발된 부위에 직접 전침자극을 가하거나 동측의

침점을 자극할 경우에는 중추방향으로의 전방향전도와 함께 말초쪽으로 전달되는 역방향전도에 의해 염증부위에서 국소적으로 분비된 아편양물질이 진통효과를 유발할 수도 있을 것으로 생각된다.

전침자극에 의해 활성화된 통각의 하행성 억제계 중 시상하부와 뇌수도관주위 회색질은 척수와 직접적인 연결은 없으며 봉선핵과 인접한 망상체형성(reticular formation)을 경유하여 척수에 도달한후^{23,24)} 척수에서 통각정보가 중추로 전달되는 과정에 영향을 미치게된다. 아편양물질은 활성화된 통각의 하행성 억제계의 신경섬유 말단에서 방출되는 주요 억제성 물질로 잘 알려져있다. 염증 및 신경손상에 의해 만성통증이 유발된 흰쥐를 이용한 본 실험에서도 저빈도의 전침자극에 의해 유발된 진통효과는 아편양물질 수용기 차단제인 naltrexone의 전처치에 의해 유의하게 약화되었다. 또한 진통효과의 유발에 관여하는 아편양물질 수용기의 subtype을 알아보기 위하여 μ - 및 δ - 및 κ -수용기에 선택적으로 작용하는 길항제를 투여해본 결과, μ - 및 δ -수용기 길항제인 β -funaltrexamine과 naltrindole을 각각 전처치하면 전침자극에 의해 유발된 진통효과가 유의하게 감소되었으나 κ -수용기 길항제는 유의한 효과가 없었다. 급성 통증모델을 이용해 전침자극효과를 구명한 많은 연구에서도 아편양물질수용기의 길항제나 항체를 투여하면 유발된 진통효과가 약화될 뿐만^{10,14)} 아니라 유전적으로 아편양물질 수용기가 결여된 CXBK계 생쥐에서는 침진통효과가 거의 유발되지 않는다는¹⁵⁾ 연구결과들은 침진통효과가 주로 아편양물질에 의해 매개됨을 시사하며, 만성통증모델을 이용한 본 실험의 결과와 일치되는 것으로 생각된다. 또한 Chen 등(1996)¹²⁾은 -3℃의 낮은 온도자극에 대한 tail flick latency의 변화를 통각의 지표로 이용한 실험에서 뇌실내로 μ - 및 δ -수용기 길항제를 투여하면 2Hz의 저빈도 전침자극에 의해 유발되는 진통효과가 차단되는 반면에 100Hz의 고빈도 전침자극에 의해 유발된 효과는 κ -수용기 길항제의 투여에 의해서는 약화되지만 μ - 및 δ -수용기 길항제의 영향은 받지 않는다고한 연구결과와도 잘 일치되며 특히 염증성 통증모델

에서는 아편양물질의 효과와 수용기의 증가로¹⁶⁾ 인하여 아편양물질에 의해 매개되는 전침자극 효과가 더욱 증가될것으로 기대된다. 전침자극에 의해 척수내로 분비된 아편양물질이 통각을 억제하여 진통효과를 유발하는 기전으로는 먼저 아편양물질이 K⁺이온 통로의 전도성을 증가시켜 시냅스전 및 시냅스후 신경섬유의 세포막을 과분극시켜 자극역치를 증가시킨다^{25,26)}. 또한 신경세포에서 기록되는 Ca²⁺전류의 지속 시간과 크기는 투여한 아편양물질의 농도에 비례하여 억제된다^{27,28)}. Ca²⁺전류가 감소되면 시냅스전 신경섬유인 구심성신경의 말단에서 척수내로 분비되는 흥분성 신경전달물질의 양이 감소될 뿐 아니라 시냅스후 신경인 척수후각세포에서는 protein kinase C 활성화와 prostaglandin 생성을 포함한 일련의 통각반응도 억제되어²⁹⁾ 통각정보가 척수에서 시상을 포함한 중추로 전달되지 못하여 진통효과가 유발된다.

결론

만성통증이 유발된 흰쥐에서 A δ 및 C신경섬유의 자극에 의해 유발된 wide dynamic range(WDR)세포의 유해자극반응에 대한 전침자극의 억제효과가 척수, 척수이상의 고위중추 혹은 말초수용기 중 어느 부위에서 유발된 것인지를 확인하고 아울러 억제효과에 관여하는 아편양물질 수용기의 subtype을 구명하기 위한 전기생리학적인 실험에서 얻은 결과는 다음과 같다.

1. 척수후각세포의 유해자극반응에 대한 전침자극의 억제효과는 뇌혈액장벽을 통과하지 못하는 naloxone methiodide의 투여에 의해 유의하게 약화되었다.
2. 척수후각세포의 유해자극반응에 대한 전침의 억제효과는 naltrexone(0.5mg/kg, i.v)의 전처치에 의해서는 유의하게 차단되었으나 후처치한 경우 억제효과에는 변화가 없었다.
3. Naltrexone을 척수표면에 적용(application)하여도 정맥주사한 경우와 같이 전침의 억제효과가 유의하게 약화되었다.

4. 2Hz 전침자극의 억제효과는 μ 및 δ -수용기 길항제의 전처치에 의해서는 강력하게 약화되었으나 κ -수용기 길항제의 영향은 매우 미약하였다.

이상의 실험결과는 저빈도 전침자극의 통증억제효과는 척수와 척수이상의 고위중추 뿐만 아니라 말초수용기에 작용한 아편양물질 수용기 특히 μ 및 δ -수용기에 의하여 매개됨을 시사한다.

참고문헌

1. Romita VV, Suk A, Henry JL. Parametric studies on electroacupuncture-like stimulation in the rat model : Effects of intensity, frequency, and duration of stimulation on evoked antinociception. *Brain Res. Bull.* 1997;42:289-96.
2. 신흥기, 박동석, 이서은, 김진혁. 전침자극이 흰쥐척수 후각세포의 유해자극반응에 미치는 효과의 특성. *대한침구학회지.* 2002;19:167-82.
3. Huang C, Wang Y, Han J-S, Wan Y. Characteristics of electroacupuncture-induced analgesia in mice : Variation with strain, frequency, intensity and opioid involvement. *Brain Res.* 2002;945:20-5.
4. Tang N-M, Dong H-W, Wang X-M, Tsui Z-C, Han J-S. Cholecystokinin antisense RNA increases the analgesic effect induced by electroacupuncture or low dose morphine: Conversion of low responder rats into high responders. *Pain.* 1997;71:71-80.
5. Lu G-W. Characteristics of afferent fiber innervation on acupuncture points Zusanli. *Am.J.Physiol.* 1983; 245:606-12.
6. Okada K, Oshima M, Kawakita K. Examination of afferent fiber responsible for the suppression of jaw-opening reflex in heat, cold, and manual acupuncture stimulation in rat. *Brain Res.* 1996;740:201-07.
7. Takeshige C, Sato T, Mera T, Hisamitsu T, Fang J. Descending pain inhibitory system involved in acupuncture analgesia. *Brain Res. Bull.* 1992;29:617-34.
8. Lee J-H, Beitz AJ. The distribution of brain-stem and spinal cord nuclei associated with different frequencies of electroacupuncture analgesia. *Pain.* 1993;52:11-28.
9. Research group of acupuncture anesthesia, Peking

- Medical College. The role of some neurotransmitters of brain in finger-acupuncture analgesia. *Scientia Sinica*. 1974;17:112-30.
10. Pert A, Dionne R, Ng L, Bragin E, Moody TW, Pert CB. Alterations in rat central nervous system endorphins following transauricular electroacupuncture. *Brain Res*. 1981;224:83-93.
 11. Romita VV, Henry JL. Spinal μ -, δ - and κ -opioid receptors mediate intense stimulation-elicited inhibition of a nociceptive reflex in the rat. *Europ. J. Pharmacol*. 1998;357:127-38
 12. Chen X-H, Geller EB, Adler MW. Electrical stimulation at traditional acupuncture sites in periphery produces brain opioid-receptor-mediated antinociception in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 1996;277:654-60.
 13. Pomeranz B, Cheng R. Suppression of noxious responses in single neurons of cat spinal cord by electroacupuncture and its reversal by the opiate antagonist naloxone. *Exp. Neurol*. 1979;64:327-41.
 14. Han J-S, Xie G-X, Zhou Z-F. Acupuncture mechanism in rabbits studied with microinjection of antibodies against β -endorphin, enkephalin and substance P. *Neuropharmacology*. 1984;23:1-5.
 15. Peets JM, Pomeranz B. CXBK mice deficient in opiate receptors show poor electroacupuncture analgesia. *Nature*. 1978;273:675-6.
 16. Stein C, Cabot PJ, Schafer M. Peripheral opioid analgesia : Mechanisms and clinical implications. In : Stein C, eds. *Opioid in pain control*. Cambridge University Press. 1999;96-108.
 17. Selley DE, Breivogel CS, Childers SR. Modification of G protein-coupled functions by low pH pretreatment of membranes from NG108-15 cells: Increase in opioid agonist efficacy by decreased inactivation of G proteins. *Mol. Pharmacol*. 1993;44:731-41.
 18. Ingram SL, Williams JT. Opioid inhibition of I_h via adenylyl cyclase. *Neuron*. 1994;13:179-86.
 19. Antonijevic I, Mousa SA, Schäfer M, Stein C. Perineurial defect and peripheral opioid analgesia in inflammation. *J.Neurosci*. 1995;15:165-72.
 20. Kalso E, Tramer MR, Carroll D, McQuay HJ, Moore RA. Pain relief from intra-articular morphine after knee surgery: A qualitative systematic review. *Pain*. 1997; 71:127-34.
 21. Honore P, Buritova J, Besson J-M. Intraplantar morphine depresses spinal C-fos expression induced by carrageenin inflammation but not by noxious heat. *Brit.J.Pharmacol*. 1996;118:671-80.
 22. Pomeranz B, Cheng R, Law P. Acupuncture reduces electrophysiological and behavioral responses to noxious stimuli: Pituitary is implicated. *Exp. Neurol*. 1977;54:172-8.
 23. Holstege G. Some anatomical observations on the projections from the hypothalamus to brain stem and spinal cord: an HRP and autoradiographic tracing study in the cat. *J.Comp.Neurol*. 1987;260:98-126.
 24. Mason P, Strassman A, Maciewicz R. Pontomedullary raphe neurons; monosynaptic excitation from midbrain sites that suppress the jaw opening reflex. *Brain Res*. 1985;329:384-9.
 25. Cherubini E, North RA. μ and κ opioids inhibit transmitter release by different mechanisms. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*. 1985;82:1860-1863.
 26. Williams JT, Egan TM, North RA. Enkephalin opens potassium channels on mammalian central neurons. *Nature*. 1982;299:74-7.
 27. Werz MA, Macdonald RL. Opioid peptides with different affinity for mu and delta receptors decrease sensory neuron calcium-dependent action potentials. *J.Pharmacol.Exp.Ther*. 1983;227:394-402.
 28. Attali B, Saya D, Nah S-Y, Vogel Z. κ opiate agonists inhibit Ca²⁺ influx in rat spinal cord-dorsal root ganglion cocultures. *J.Biol.Chem*. 1989;264:347-353.
 29. Coderre TJ. Contribution of protein kinase C to central sensitization and persistent pain following tissue injury. *Neurosci. Lett*. 1992;140:181-4.