

원저

## 고빈도 120 Hz 전침이 Carrageenan으로 유발된 환쥐의 Prostaglandin E2와 척수 N-Methyl-D- Aspartate Receptor 발현에 미치는 영향

손인석 · 최병태\* · 장경전

동의대학교 한의과대학 침구경혈학교실·해부학교실\*

### Abstract

#### The Effects of 120Hz Electroacupuncture on the Prostaglandin E2 and Spinal N-Methyl-D-Aspartate Receptor Expression in the Carrageenan-Injected Rat

Son In-seok, Choi Byung-tae\* and Jang Kyung-jeon

Department of Acupuncture & Moxibustion and \*of Anatomy,  
College of Oriental Medicine, Dong-Eui University

**Objective** : The role of high frequency 120 Hz electroacupuncture(EA) in carrageenan-induced pain was studied by examining the analgesic effects, and prostaglandin E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>) levels measurement and spinal N-methyl-D-aspartate(NMDA) receptor expression. Inflammation was induced by an intraplantar injection of 1% carrageenan into the right hind paw.

**Methods** : Bilateral EA stimulation with 120 Hz were delivered at those acupoints corresponding to Zusanli and Sanyinjiao in man via the needles for a total of 30 min duration in carrageenan-injected rats.

**Results** : EA stimulation showed significant analgesic effects as measured by analgesy-meter at all time points tested compared with controls. Three hours after carrageenan injection, PGE2 levels were measured by commercial kit. EA significantly inhibited PGE2 production in the right paw. The number of NR1 and NR2A, NMDA

- 접수 : 2003년 5월 10일 · 수정 : 2003년 5월 15일 · 채택 : 2003년 5월 17일  
· 교신저자 : 장경전, 부산광역시 진구 양정2동 동의대학교 한의과대학 침구경혈학교실  
Tel. 051-850-8612 E-mail : kjang@dongeui.ac.kr

receptor, immunoreactive neurons was significantly increased in the superficial dorsal horn(laminae I-II) and nucleus proprius(laminae III-IV) of ipsilateral spinal cord at L4-5. But the number of carrageenan-induced NR1 and NR2A immunoreactive neuron, especially NR1 immunoreaction in the superficial dorsal horn, was reduced by 120 Hz EA stimulation.

**Conclusions** : These results indicate that NMDA receptors may mediate transmission of nociceptive information originating in tissue inflammation of hind paw and high frequency 120 Hz EA stimulation have an alleviating action against local inflammatory pain.

**Key words** : 120 Hz Electroacupuncture, Prostaglandin E<sub>2</sub>, Spinal N-Methyl-D-Aspartate Receptor, Carrageenan-Injected Rat

## I. 緒 論

통통(pain)은 실제적이거나 잠재적인 조직손상과 연관된 불유쾌한 감각 또는 정서적 경험으로 상해와 연관된 경험으로부터 배우며 성질에 따라 생리적, 염증성, 신경성 통통의 3가지 범주로 나뉜다<sup>1)</sup>. 진통효과(pain-killing effect)은 침치료 효능 중 가장 두드러진 작용으로 특정 매개변수 조절로 표준화가 가능한 전침(electroacupuncture)에 의한 무통각은 진전된 과학적 방법론과 더불어 그 메커니즘이 해부생리학적으로 규명되고 있다<sup>2)</sup>.

통통과 관련된 말초성 침해수용기(nociceptor)로는 유수 기계수용기 A $\delta$ -fiber(myelinated A $\delta$  mechanoreceptor)와 무수 다양상 침해수용기 C-fiber(unmyelinated C polymodal fiber)가 있으며 대부분 척수 배각의 laminae I 과 II에 있는 세포체에 종말가지를 내나 일부 A $\delta$ -fiber는 laminae V에 종말가지를 낸다<sup>3)</sup>. 염증관련 증상에 주요한 기능을 가진 Prostanoid 중 PGE<sub>2</sub>는 A $\delta$ -와 C-fiber 신경세포막에 작용하여 반응을 증대시킨다<sup>4),5)</sup>. PGE<sub>2</sub>에 대한 예상 표적과 활성화에 대해 충분히 밝혀져 있지

않으나 결합부위가 척수와 감각신경원에 있다<sup>6)</sup>.

일차구심성섬유(primary afferent fiber) 말단에서 glutamate와 aspartate같은 amino acid와 substance P, calcitonin gene-related peptide(CGRP) 같은 neuropeptide 등의 신경전달 물질을 동시에 분비되어 fast와 slow excitatory postsynaptic potential을 형성한다<sup>7)</sup>. Glutamate 또는 aspartate와 같은 excitatory amino acid(EAA)는 빠른 흥분성 전달(fast excitatory transmitter)에 관여하며 침해성 일차구심신경섬유 말단에 풍부히 분포하며 침해성 자극 수용에 중요한 기능을 하며 기능적으로 PGE<sub>2</sub>도 이들의 분비를 조절한다<sup>8),9)</sup>.

말초성 염증형성 후 병리적 통통상태는 일차적으로 척수의 EAA receptor의 현저한 흥분성에 따른 순차적 세포내 반응과 연관성이 있다<sup>10),11)</sup>. 즉 glutamate antagonist의 말초 또는 중추신경투여 모두 통각과민(hyperalgesia) 반응을 저하시킴을 볼 때 척수세포의 환경으로 EAA 분비와 이들 receptor를 매개한 반응은 말초성 염증조절과 척수로 가는 자극 전달에 매우 중요하다<sup>12),13)</sup>.

본 연구는 국소적 염증성 통통과 통각과민 실험에 널리 쓰이는 carrageenan을 발바닥에 주사하고 이에

고빈도 120 Hz 전침 자극을 주었을 때 동통에 대한 효과를 물리적 자극을 통해 측정하고, 이에 대한 효과를 발바닥내 PGE<sub>2</sub> 수준과 척수에서 ionotropic glutamate receptor 중 하나인 N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor 발현에 대한 면역조직화학적 검사를 통하여 전침의 동통 완화 효과를 알아보았다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 실험동물

8주된 건강한 Sprague-Dawley계 흰쥐를 Taconic & SamYuk Co.로 부터 구입하여 2주간 자유식이법으로 실험실 환경에 순화시킨 후 실험에 사용하였다. 국소적 염증유발을 위해 1% carrageenan(Sigma, USA) 50ul을 우측족피에 주사한 대조군과 carrageenan 주사 후 전침처리한 전침군, 그리고 동일 양의 saline 용액을 주사한 정상군으로 나누어 사용하였으며 각 군당 8 내지 10마리를 사용하였다.

### 2. 전침자극

Carrageenan 주사 후 바로 전침 자극을 시작하였다. 스테인레스 0.25mm 침을 전침기(세창메디칼, SM-600)에 연결하여 고빈도인 120 Hz 빈도로 삼음교(SP6, 足內踝上 3寸 骨下陷中)와 족삼리(ST36, 膝下 3寸 脛骨外廉大筋 兩筋肉分間)에 해당하는 혈위에 자침한 후 30분간 양쪽 부위 모두 각 부위를 따로 자극하였고 강도는 10분 간격으로 순차적으로 1, 2, 3mA로 조절하였다.

### 3. 진통효과 측정

전침자극에 따른 진통효과는 Randall-Sellitto법에 따라 Analgesy-meter(Ugo Basile, Italy)로 carrageenan 또는 saline을 주사한 우측 족배부를

가압하여 동통을 느끼는 반응에 해당하는 무게를 측정하였다.

### 4. PGE<sub>2</sub> 측정

PGE<sub>2</sub>분석은 PGE<sub>2</sub> immunoassay kit(R&D systems, Minneapolis, USA)를 사용하였다. Carrageenan 주입부위를 phosphate buffered saline(PBS, pH7.4)로 마쇄한 후 5,000rpm에 5분 동안 원심 분리하였으며 그 상층액을 manufacturers assay buffer ED<sub>1</sub>로 희석시켰다. 희석한 용액을 PGE<sub>2</sub> conjugate, PGE<sub>2</sub> antibody and pNPP substrate로 순차적으로 반응시키고 VERSAmax tunable micro plate reader(Molecular devices, CA)를 사용하여 405nm에서 측정하였으며 PGE<sub>2</sub>수준은 SOFTmax PRO(Molecular devices)를 사용해 계산하였다.

### 5. 척수의 조직절편 제작

전침 자극 후 3시간에 10% chloral hydrate(350 mg/Kg i.p.)로 마취한 후 4% paraformaldehyde로 관류고정시켰다. 추궁절제를 통해 척수를 분리하여 요팽대부를 포함한 L<sub>4-5</sub>에 해당하는 부위를 절취하여 동일 고정액으로 4°C에 12시간 후 고정하였다. 30% sucrose에 48시간 둔 후 tissue-Tek compound에 포매하며 30μm의 동결절편을 얻었다. 조직 병리학적 관찰을 위하여 hematoxylin-eosin 염색을 실시하였다.

### 6. 면역조직화학적 관찰

면역조직화학적 관찰을 위해 free-floating method를 사용하였다. 동결절편을 3% methanolic hydrogen peroxide에 30분간 실온에서 처리하고 phosphate buffered saline(PBS, pH7.4)로 세척한 후 1% goat normal serum과 0.3% triton X-100의 PBS에 30분간 실온에서 처리하였으며 NMDA receptor인 NR1 및 NR2A 항체(Upstate, USA)를

1 $\mu$ g/ml로 희석하여 4°C 습실에 16시간 동안 반응시켰다. PBS로 세척하고 biotinylated anti-rabbit Ig G(Vector Lab., USA)를 실온에서 30분 동안 반응시켰으며 PBS로 세척 후 ABC kit(Vector Lab., USA)에 실온에서 60분간 반응시켰다.

DAB substrate kit(Vector Lab., USA)로 실온에서 5분간 발색시켰으며 면역반응세포의 관찰은 척수배각의 superficial dorsal horn(SDH, laminar I-II)과 nucleus proprius(NP, laminar III-IV)에 나타내는 세포를 현미경하에서 계수 하였다. 상기 실험 방법 중 일차항체 대신 10% BSA/PBS를 처리하고 동일한 과정으로 염색한 것을 대조군으로 삼았다.

### 7. 통계처리

통계처리는 평균과 표준편차로 표시하였으며 SigmaPlot version 6.0(SPSS, Chicago, IL)로 Student's t-test로 유의차를 검사하였다.

## III. 結果

### 1. 전침 무통각에 대한 Analgesy-meter 측정

Analgesy-meter를 이용하여 carrageenan를 발바닥에 주사함과 동시에 120 Hz 전침자극을 30분간 행하고 전침자극 후 3시간까지 30분 간격으로 측정 한 결과는 <Fig. 1>에서 보는 바와 같다. Saline을 주사한 정상군에 비해 carrageenan을 주사한 대조군이 보다 낮은 무게에서 동통에 반응하였으며 120Hz 전침군은 정상군과 대조군보다 높은 동통에 대한 역치를 보여주었다. 대조군과 전침군의 역치를 비교해 보면 전침자극 후 120분까지 P<0.005 유의성을 가지며 이후 전침자극 후 150분에는 P<0.01, 전침자극 후 180분에는 P<0.05의 유의성을 나타내었다<Fig. 1>.

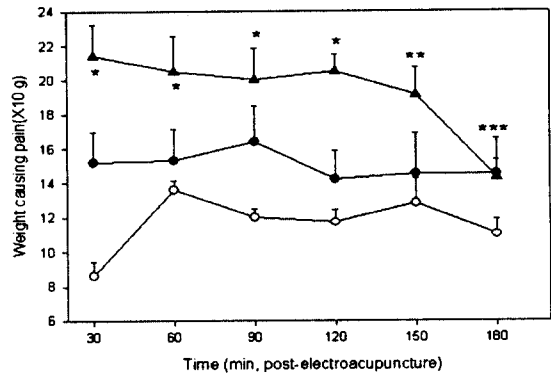


Fig. 1. The analgesic effect of 120Hz EA stimulation in 1% carrageenan-injected rats.

\* P<0.005, \*\* P<0.01 and \*\*\* P<0.05 indicate significant differences from carrageenan-injected group. Saline-injected groups(●); carra-geenan-injected group(○); 120 Hz EA stimulation after termination of the carrageenan injection(▲).

### 2. 발바닥 조직의 PGE<sub>2</sub>양 분석

발바닥 조직에서 염증과 동통유발에 있어 주요한 역할을 담당하는 PGE<sub>2</sub> 수준을 측정 한 결과는 그림 2에서 보는 바와 같다. PGE<sub>2</sub> 수준을 비교해 보면 정상군은 조직 0.1g당 374.5±67.4pg이나 대조군은 866.8±71.0pg으로 유의성(P<0,005) 있게 증가하였다. 고빈도 120 Hz 전침자극을 가한 전침군은 491.7±31.0pg으로 대조군에 비해 유의성(P<0.005)있게 감소하였다<Fig. 2>.

### 3. 척수에 대한 조직병리학적 관찰

광학현미경하에서 carrageenan 처리한 대조군과 전침군 척수의 구조를 살펴보면 정상군과 유사한 구조를 나타내어 신경퇴행성 변화는 보여주지 않았다.

4. NMDA Receptor 면역반응세포 관찰  
전반적으로 NR1 면역반응은 다른 부위에 비해 SDH에서 강한 반응을 보였다. 면역반응 세포수를 살

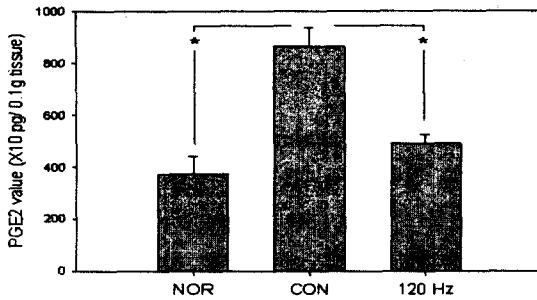


Fig. 2. Mean PGE<sub>2</sub> contents in foot expressed as pg per 0.1g of inflammatory tissues.

Note significant increases in controls compared with normals. All bars indicate means±S.D. of 8 rats each group. \* P<0.005 compared with carrageenan-injected groups. NOR, saline-injected groups; CON, carrageenan-injected group; 120 Hz EA, 120 Hz EA stimulation after termination of the carrageenan injection.

퍼보면 정상군에 비해 carrageenan을 처리한 대조군에서 SDH에서 세포수가 유의성(P<0.05) 있게 증가하였다. 전침군 SDH의 NR1 면역반응 세포수는 대조군에 비해 유의성(P<0.05) 감소하였으나 NP의 면역반응 세포수는 대조군에서 다소 증가할 뿐 유의성을 나타내지 않았다. SDH와 NP에 관찰되는 총면역반응 세포수를 비교해 보면 정상군에 비해 대조군은 유의성(P<0.05) 있게 증가하며 전침군은 대조군에 비해 다시 유의성(P<0.05) 있게 감소하였다(Fig. 3).

NR2A 면역반응 세포수도 다른 부위에 비해 SDH에서 반응이 강하게 나타나며 면역반응 세포수는 정상군에 비해 대조군과 전침군 모두 유의성(P<0.05) 있게 증가하였다. NP에서는 정상군에 비해 대조군은 P<0.005 유의성을 전침군과는 P<0.05 유의성을 보였으며 총세포수로 볼 때 정상군에 비해 대조군, 전침군 모두 P<0.005 유의성을 보였다. 대조군과 전침군을 비교해 보면 대조군에 비해 전침군의 SDH 및 NP 면역반응 세포수가 다소 감소하나 유의성은 보여 주지 않았다(Fig. 4).

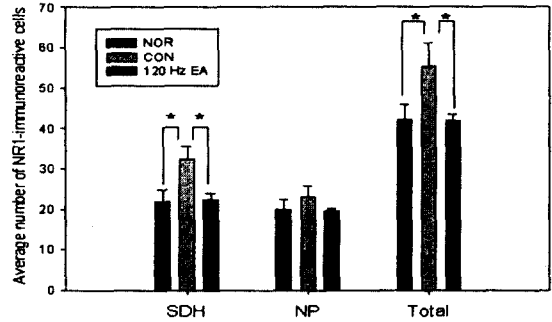


Fig. 3. Effects of 120Hz EA stimulation on the number of NR1-immunoreactive cells evoked by intraplantar injection of 1% carrageenan.

Data expressed as mean±S.D. of 8 rats each group. \* P<0.05 compared with carrageenan-injected group. NOR, saline-injected groups; CON, carrageenan-injected group; 120Hz EA, 120Hz EA stimulation after termination of the carrageenan injection; SDH, superficial dorsal horn(laminae I-II); NP, nucleus proprius(laminae III-IV).

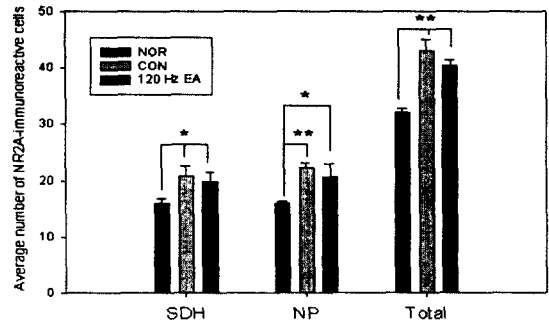


Fig. 4. Effects of 120 Hz EA on the number of NR2A-immunoreactive cells evoked by intraplantar injection of 1% carrageenan.

Data expressed as mean±S.D. of 8 rats each group. \* P<0.05 and \*\* P<0.005 compared with saline-injected groups. NOR, saline-injected groups; CON, carrageenan-injected group; 120Hz EA, 120Hz EA stimulation after termination of the carrageenan injection; SDH, superficial dorsal horn(laminae I-II); NP, nucleus proprius(laminae III-IV).

#### IV. 考 察

침자극에 의한 진통작용은 다른 침효능에 비해 전기생리학적이나 신경생리적 관점에서 쉽게 접근할 수 있어 이에 대한 적용에 대해 널리 연구되고 있다. 특히 전침은 전통적인 수기에 의존한 침자극과 상이하게 특정 pulse width, intensity, frequency 조절이 가능하여 이에 대한 무통각(analgesia) 기전은 잘 알려져 있다.

전침 무통각의 연구를 보면 전침 빈도별 자극에 따라 중추신경계의 상이한 반응을 보이는데 2 Hz 같은 저빈도 전침은 뇌와 척수 enkephalin과  $\beta$ -endorphin 분비하며  $\mu$ -와  $\delta$ -opioid receptor가 관계하고 100 Hz 같은 고빈도 전침은 척수에서 dynorphin을 분비하며 척수배각(dorsal horn)의  $\kappa$ -opioid receptor가 관여할 뿐 아니라 이 무통각 작용은 전침 처치 후에도 일정시간 지속된다<sup>14),15)</sup>.

본 실험에서 carrageenan을 투여한 흰쥐에 전침 자극을 가한 후 이에 의한 물리적 동통에 대한 반응을 analgesy-meter로 측정해 본 결과 정상군에 비해 carrageenan 처리군에서 낮은 무게에서 반응을 나타내었다. 그러나 120Hz 전침자극을 주었을 때 전침 처리 후 30분 후부터 모두 정상군보다 높은 역치를 나타내었으며 전침자극 후 3시간에 정상군과 유사한 반응을 나타내었다. 이는 전침에 의한 무통각이 전침자극 후 3시간까지 강하게 작용함을 알 수 있으며 대조군과 비교해 보아도 측정된 모든 시간대에서 유의성을 보여주고 있어 전침처리가 carrageenan에 의한 동통을 완화시킴을 알 수 있다.

Prostanoid는 염증과 관련된 증상에 주요한 기능을 가지나 이중 PGE<sub>2</sub>는 A $\delta$ -와 C-fiber 같은 침해수용기에 작용하여 침해자극에 대한 척수반응과 연관성을 가지고 있다<sup>4),5),16)</sup>. Kaolin이나 carrageenan

에 의한 염증 유발에서도 COX와 더불어 주요한 변수인 PGE<sub>2</sub>는 조직염증의 hyperalgesia와 연관성을 가지고 있다<sup>17),18)</sup>.

본 실험에서 carrageenan을 주입한 족부에 대한 PGE<sub>2</sub> 양을 정량한 결과를 보면 정상군에 비해 대조군은 유의성 있게 증가하며 전침을 처리했을 때 이의 증가를 저해되었다. 이는 족부 자체의 염증 반응과 연관되어 이에 대한 항염증 작용을 말할 수 있으나 이는 침해수용기를 통해 척수 감각신경원에도 영향을 미친다. 기능적으로 PGE<sub>2</sub>는 척수의 synaptosomes으로부터 glutamate와 aspartate 분비조절과 일차구심성신경원의 substance P와 calcitonin gene-related protein 분비를 조절한다<sup>19),20)</sup>. 나아가 NMDA receptor 메커니즘과의 연관성을 가지고 있다<sup>9),21)</sup>.

Glutamate를 포함한 EAA는 침해성 일차구심성경성유 말단에 풍부히 분포하며 침해성 자극 수용에 중요한 기능을 한다<sup>7)</sup>. EAA는 ion channel 형성과 G-protein coupled metatrophic을 통해 기능을 나타내는데 ionotropic glutamate receptor는 각각의 agonist 즉 NMDA,  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA)와 kainate(KA)에 대한 선택적 활성에 따라 NMDA receptor, AMPA receptor, KA receptor로 분류한다<sup>22)</sup>.

Carrageenan 주사에 의한 척수 손상에 대해 광학 현미경적으로 살펴보면 어두운 또는 공포화된 신경원 등 두드러진 신경퇴행성 변화는 보이지 않아 carrageenan에 의한 염증이 척수 신경원에 손상을 주지 않음을 알 수 있다.

그러나 carrageenan 유발통각과민 형성에 AP-5와 NBQX 같은 NMDA 및 AMPA/KA antagonist가 농도 비례적으로 저해하는 동통조절에 NMDA receptor가 관여하며 말초성 침해수용체인 A $\delta$ -와 C-fiber 대부분이 척수배각의 laminae I 과 II에 있는 세

포체에 종말가지를 내고 있다<sup>3),23)</sup>. 따라서 본 실험에서 SDH와 NP에 대한 NMDA receptor 면역반응 세포수를 계수하였다

척수에서 ionotropic glutamate receptor이며 NMDA receptor 중 하나인 NR1 면역반응을 보면 핵주위부세포체(perikaryon)와 proximal dendritic shafts에 주로 나타나며 족부 염증시에는 medial lamina I에 이들 면역반응세포가 증가한다<sup>24)</sup>. 이와 유사하게 AMPA receptor인 Glu R1과 GluR2/3의 면역조직화학 반응도 laminae I, II에서 강한 반응을 나타내었다<sup>25)</sup>.

본 연구에서 NR1과 NR2A 모두 정상군에 비해 carrageenan을 처리했을 때 면역반응 세포수가 증가하였다. 그러나 carrageenan 주사와 동시에 전침 자극을 NR1은 SDH와 총세포수에 있어 대조군에 비해 유의성 있게 면역반응세포수가 감소하였으며 NR2A는 다소 수적인 감소를 나타내나 유의성은 보여 주지 않았다. 이로 보아 carrageenan에 의한 동통의 centralization에 NMDA receptor가 관여하며 이에 대한 전침의 동통완화 효과에 작용함을 알 수 있다.

또한 중추신경계의 많은 부위에서 opioid receptor와 NMDA receptor가 밀접히 연관되어 분포하고 있어 이들이 nociception과 antinociception에 있어 가장 중요한 작용을 한다<sup>26)</sup>.

중추신경계내 opioid는 직간접적으로 NMDA가 매개된 전기생리학적 활성조절에 관여하며 특히  $\mu$ -와  $\delta$ -에 비해  $\kappa$ -opioid receptor가 NMDA receptor와 밀접한 관련이 있다<sup>27)</sup>. 고빈도 100 Hz 같은 전침은 척수에서 dynorphin을 분비하며 척수 배각(dorsal horn)의  $\kappa$ -opioid receptor가 관여함을 볼 때 본 실험의 120 Hz 전침자극에 의한 opioid계와 NMDA receptor간의 연관성을 유추할 수 있으며 이에 대한 깊이 있는 연구가 진행되어야 할 것이다.

## V. 結 論

1% carrageenan을 흰쥐 우측 발바닥에 주사한 후 고빈도 120 Hz 전침을 30분간 자극하였을 때 나타나는 진통효과를 analgesy-meter로 판정한 후 족부에 생성된 PGE<sub>2</sub>양과 척수내 NMDA receptor 발현 정도를 면역조직화학적으로 검색하였다.

1. 120 Hz 전침자극은 대조군에 비해 유의성 있는 높은 진통효과를 나타내며 발바닥내 PGE<sub>2</sub> 생성량도 유의성 있게 감소하였다.

2. 척수내 NR1과 NR2A 면역반응을 보면 두 수용체 면역반응 모두 carrageenan에 의해 증가되나 전침 자극은 이러한 반응 세포수 증가를 완화시켰다.

3. SDH의 NR1 면역반응이 현저히 감소하였다.

이로 보아 carrageenan에 의해 유발되는 동통에 대한 120 Hz 고빈도 전침의 작용은 PGE<sub>2</sub>와 NMDA receptor를 통해 조절됨을 알 수 있다.

## IV. 參考文獻

1. Riedel W, Neeck G. Nociception, pain, and antinociception : current concepts. *Z Rheumatol.* 2001 ; 60 : 404-15.
2. Zhang M, Sun Q, Wan Y, Yao L, Yu Y, Han JS, OFQ reverses the kopiodreceptor-mediated depression of calcium current in rat dorsal root ganglion neurons. *Neuro Report,*

- 1998 ; 9 : 2095-8.
3. Millan MJ. The induction of pain : an integrative review. *Prog. Neurobiol.* 1999 ; 57 : 1-164.
  4. Khasar SG, Ouseph AK, Chou B, Ho T, Green PG, Levine JD. Is there more than one prostaglandin E receptor subtype mediating hyperalgesia in the rat hindpaw? *Neuroscience*, 1995 ; 64 : 1161-5.
  5. Sann H, Pierau FK. Efferent functions of C-fiber nociceptors. *Z Rheumatol.* 1998 ; 57 : 8-13.
  6. Matsumura K, Watanabe Y, Imai-Matsumura K, Connolly M, Koyama Y, Onoe H, Watanabe Y. Mapping of prostaglandin E2 binding sites in rat brain using quantitative autoradiography. *Brain Res.* 1992 ; 581 : 292-8.
  7. De Biasi S, Rustioni A. Glutamate and substance P coexist in primary afferent terminals in the superficial laminae of spinal cord. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1988 ; 85 : 7820-4.
  8. Randic M, Jiang MC, Cerne R. Long-term potentiation and long-term depression of primary afferent neurotransmission in the rat spinal cord. *J. Neurosci.* 1993 ; 13 : 5228-41.
  9. Ferreira SH, Lorenzetti BB. Intrathecal administration of prostaglandin E2 causes sensitization of the primary afferent neuron via the spinal release of glutamate. *Inflamm. Res.* 1996 ; 45 : 499-502.
  10. Sorkin LS, Westlund KN, Sluka KA, Dougherty PM, Willis WD. Neural changes in acute arthritis in monkeys. IV. Time-course of amino acid release into the lumbar dorsal horn. *Brain Res. Rev.* 1992 ; 17 : 39-50.
  11. Sluka KA, Jordan HH, Willis WD, Westlund KN. Differential effects of N-methyl-D-aspartate(NMDA) and non-NMDA receptor antagonists on spinal release of amino acids after development of acute arthritis in rats. *Brain Res.* 1994 ; 664 : 77-84.
  12. Agha AM, El-Khatib AS, Kenawy SA, Khayyal MT. The influence of carbon tetrachloride-induced liver damage on the inflammatory reaction elicited by carrageenan and its treatment with diclofenac. *Pharmacol. Res.* 1995 ; 32 : 75-84.
  13. Jackson DL, Graff CB, Richardson JD, Hargreaves KM. Glutamate participates in the peripheral modulation of thermal hyperalgesia in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 1995 ; 284 : 321-5.
  14. Chen XH, Han JS. Analgesia induced by electroacupuncture of different frequencies is mediated by different types of opioid receptors : another cross-tolerance study. *Behav. Brain Res.* 1992 ; 47 : 143-9.
  15. Huang C, Wang Y, Chang JK, Han JS. Endomorphin and mu-opioid receptors in mouse brain mediate the analgesic effect induced by 2 Hz but not 100 Hz electroacupuncture stimulation. *Neurosci. Lett.* 2000 ; 294 : 159-62.
  16. Cohen RH, Perl ER. Contributions of arachidonic acid derivatives and substance P to the sensitization of cutaneous nociceptors.



- J. Neurophysiol. 1990 ; 64 : 457-64.
17. Zhang Y, Shaffer A, Portanova J, Seibert K, Isakson PC. Inhibition of cyclooxygenase-2 rapidly reverses inflammatory hyperalgesia and prostaglandin E2 production. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1997 ; 283 : 1069-75.
  18. Ebersberger A, Grubb BD, Willingale HL, Gardiner NJ, Nebe J, Schaible HG. The intraspinal release of prostaglandin E2 in a model of acute arthritis is accompanied by an up-regulation of cyclo-oxygenase-2 in the spinal cord. *Neuroscience*, 1999 ; 93 : 775-81.
  19. Nicol GD, Klingberg DK, Vasko MR. Prostaglandin E2 increases calcium conductance and stimulates release of substance P in avian sensory neurons. *J. Neurosci.* 1992 ; 12 : 1917-27.
  20. Vasko MR, Campbell WB, Waite KJ. Prostaglandin E2 enhances bradykinin-stimulated release of neuropeptides from rat sensory neurons in culture. *J. Neurosci.* 1994 ; 14 : 4987-97.
  21. Nishihara I, Minami T, Watanabe Y, Ito S, Hayaishi O. Prostaglandin E2 stimulates glutamate release from synaptosomes of rat spinal cord. *Neurosci Lett.* 1995 ; 196 : 57-60.
  22. Bleakman D, Lodge D. Neuropharmacology of AMPA and kainate receptors. *Neuropharmacology*, 1998 ; 37 : 1187-204.
  23. Nishiyama M, Hong K, Mikoshiba K, Poo MM, Kato K. Calcium stores regulate the polarity and input specificity of synaptic modification. *Nature*, 2000 ; 408 : 584-8.
  24. Benoliel R, Tanaka M, Caudle RM, Iadarola MJ. Co-localization of N-methyl-D-aspartate receptors and substance P(neurokinin-1) receptors in rat spinal cord. *Neurosci. Lett.* 2000 ; 291 : 61-4.
  25. Carlton SM, Hargett GL, Coggeshall RE. Plasticity in alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor subunits in the rat dorsal horn following deafferentation. *Neurosci Lett.* 1998 ; 242 : 21-4.
  26. Mao J. NMDA and opioid receptors : their interactions in antinociception, tolerance and neuroplasticity. *Brain Res. Rev.* 1999 ; 30 : 289-304.
  27. Bonnot A, Corio M, Tramu G, Viala D. Immunocytochemical distribution of ionotropic glutamate receptor subunits in the spinal cord of the rabbit. *J. Chem. Neuroanat.* 1996 ; 11 : 267-78.