

## 제5요후근을 절단한 백서에서 제5요척수신경의 신경손상이나 전기자극에 의한 기계적 과민통 생성에 있어서 말초 글루타민산 수용기의 역할

연세대학교 의과대학 <sup>1</sup>생리학교실, <sup>2</sup>마취통증의학교실, <sup>3</sup>뇌연구소, <sup>4</sup>BK21 의과학사업단

장준호<sup>1,4</sup> · 남택상<sup>1,3,4</sup> · 윤덕미<sup>2,3</sup> · 임중우<sup>1,3,4</sup> · 백광세<sup>1,3</sup>

= Abstract =

### Role of Peripheral Glutamate Receptors to Mechanical Hyperalgesia following Nerve Injury or Antidromic Stimulation of L5 Spinal Nerve in Rats with the Previous L5 Dorsal Rhizotomy

Jun Ho Jang, Ph.D.<sup>1,4</sup>, Taick Sang Nam, M.D., Ph.D.<sup>1,3,4</sup>, Duck Mi Yoon, M.D., Ph.D.<sup>2,3</sup>, Joong Woo Leem, Ph.D.<sup>1,3,4</sup>, and Gwang Se Paik, M.D., Ph.D.<sup>1,3</sup>

Departments of <sup>1</sup>Physiology and <sup>2</sup>Anesthesiology & Pain Medicine, <sup>3</sup>Brain Research Institute, and <sup>4</sup>Brain Korea 21 Project for Medical Science, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

**Background:** Peripheral nerve injury leads to neuropathic pain, including mechanical hyperalgesia (MH). Nerve discharges produced by an injury to the primary afferents cause the release of glutamate from both central and peripheral terminals. While the role of centrally released glutamate in MH has been well studied, relatively little is known about its peripheral role. This study was carried out to determine if the peripherally conducting nerve impulses and peripheral glutamate receptors contribute to the generation of neuropathic pain.

**Methods:** Rats that had previously received a left L5 dorsal rhizotomy were subjected to a spinal nerve lesion (SNL) or brief electrical stimulation (ES, 4 Hz pulses for 5 min) of the left L5 spinal nerve. The paw withdrawal threshold (PWT) to von Frey filaments was measured. The effects of an intraplantar (i.pl.) injection of a glutamate receptor (GluR) antagonist or agonist on the changes in the SNL- or ES-produced PWT was investigated.

**Results:** SNL produced MH, as evidenced by decrease in the PWT, which lasted for more than 42 days. ES also produced MH lasting for 7 days. MK-801 (NMDAR antagonist), DL-AP3 (group-I mGluR antagonist), and APDC (group-II mGluR agonist) delayed the onset of MH when an i.pl. injection was given before SNL. The same application blocked the onset of ES-induced MH. NBQX (AMPA receptor antagonist) had no effect on either the SNL- or ES-induced onset of MH. When drugs were given after SNL or ES, MK-801 reversed the MH, whereas NBQX, DL-AP3, and APDC had no effect.

**Conclusions:** Peripherally conducting impulses play an important role in the generation of neuropathic pain, which is mediated by the peripheral glutamate receptors. (Korean J Pain 2006; 19: 33-44)

**Key Words:** electrical stimulation, glutamate, injury discharge, nerve injury, neuropathic pain.

### 서 론

말초신경 손상은 신경병증통증을 유발하는데, 이는 특별한 외부자극 없이도 타는 듯한 통증이 유발되는 자발통, 비

유해한 자극에도 통증을 느끼는 이질통, 그리고 유해한 자극에 더욱 항진된 통증을 느끼게 되는 과민통 등을 포함한다. 말초신경이 손상되면 손상 받은 신경은 일시적인 손상 방전을 생성하는데,<sup>1)</sup> 이는 척수 혹은 말초 쪽 양방향으로 전도될 수 있다. 중추 쪽으로 전도되는 순방향(orthodromic)

접수일 : 2006년 1월 19일, 승인일 : 2006년 4월 28일

책임저자 : 임중우, (120-752) 서울시 서대문구 신촌동 134, 연세대학교 의과대학 생리학교실

Tel: 02-2228-1709, Fax: 02-393-0203, E-mail: jwleem@yumc.yonsei.ac.kr

본 연구는 연세대학교 의과대학 교수연구비(6-2004-1085) 지원으로 수행되었음.

Received January 19, 2006, Accepted April 28, 2006

Correspondence to: Joong Woo Leem, Department of Physiology, Yonsei University College of Medicine, 134 Sinchon-dong, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea. Tel: +82-2-2228-1709, Fax: +82-2-393-0203, E-mail: jwleem@yumc.yonsei.ac.kr

This study was supported by a faculty research grant of Yonsei University College of Medicine for 2004 (No. 2004-1085).

손상방전은 중추성 민감화(central sensitization)를 유도함으로써 신경병증통증의 개시에 기여하는 것으로 알려졌으나,<sup>2,5)</sup> 말초로 전도되는 역방향(antidromic) 손상방전의 역할은 관심을 받지 못하였다. 하지만, 최근의 몇몇 보고는 정상상황에서 말초로 전도되는 역방향 신경활동이 glutamate 수용체 활성화를 통해 말초에서 기원하는 통증감각에 기여할 수 있음을 보여주었다. 즉, 일차 구심섬유의 역방향 전기자극은 쥐 뒷발의 피하조직에 glutamate 양을 증가시켰으며,<sup>6)</sup> 일차 구심 비수초섬유에 ionotropic glutamate (iGlu)와<sup>7,8)</sup> metabotropic glutamate (mGlu)<sup>9-11)</sup> 수용체가 존재하며, glutamate<sup>7,12)</sup> 혹은 glutamate 수용체 작용제의<sup>13,14)</sup> 발바닥 피하 주입은 통증행동을 유도하였으며, 이러한 통증행동은 glutamate 수용체 길항제의 전처치에 의해 억제되었다.<sup>9,11,15)</sup> 이러한 증거들은 말초신경 손상 시 말초로 전도되는 역방향 손상방전이 말초에 glutamate 방출을 통해 신경병증통증에 관여할 가능성을 제시하여 준다.

신경병증통증 연구에서 쥐를 이용한 동물모델로 자주 이용되는 제5요척수신경 손상(L5 spinal nerve lesion) 모델의 변형된 형태로서 제5요후근(L5 dorsal root)을 미리 절단함으로써 중추로 전도되는 신경활동을 막아 준 제5요척수신경 손상 모델에서 기계적 과민통증(mechanical hyperalgesia)이 장시간 생성됨이 관찰되었다.<sup>16)</sup> 따라서 이 모델 쥐는 제5요척수신경 손상 모델 쥐에 비하여 신경손상에 따른 말초신경계 변화가 신경병증통증에 미치는 영향을 연구하는데 유리함을 보인다. 여기서 신경 손상에 의한 말초신경계 변화는 손상 받은 신경(L5 척수신경 내)에서 생성되어 말초로 전도되는 손상방전에서 기인되는 것과 손상 신경의 말초 쪽으로 나타나는 Wallerian degeneration(왈레리 변성)의 영향을 받는 이웃하는 비손상 신경(L4 척수신경 내)에서 유발되는 자발방전에서 기인되는 것을 생각할 수 있다. 실제로 신경손상 후 손상신경과 인접해 있는 비손상 구심섬유에서 자발방전이 생성됨은 이미 보고 된 바 있다.<sup>17-19)</sup> 이 변형된 손상 모델을 이용해서는 신경병증통증 생성에 있어서 말초로 전도되는 손상방전 만의 기여도를 분리하여 판단하기는 불가능하다. 손상방전의 역할을 독립적으로 연구하기 위한 다른 방법은 손상방전을 모방하는 전기자극, 즉 인위적 손상방전(artificial injury discharge)을 이용하는 것인데, 본 실험실에서는 제5요후근 절단 쥐에서 제5요척수신경 전기자극이 신경병증통증 반응을 유발함을 예비실험에서 확인하였다. 본 연구에서는 신경병증통증 생성에 있어서 말초로 전도되는 손상방전의 기여를 밝히고자 제5요후근을 절단한 쥐를 이용하여, 1) 제5요척수신경에 가해진 신경손상과 전기자극 각각에 의해 생성되는 신경병증통증반응 간에 시간경과에 따른 변화 양상을 비교하고, 2) 이들 각 통증반응 생성에 있어서 말초 N-methyl-D-aspartate (NMDA),  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid (AMPA)/kainate, group-I mGlu 그리고 group-II mGlu 수용체의 역할을 조사하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 동물

수컷 Sprague-Dawley 쥐(200-250 g)를 이용하여 실험하였다. 3-4 마리를 한 상자에서 사육하였으며, 물과 먹이는 자유롭게 먹을 수 있도록 하였다. 일정한 광주기성을 유지하였고, 수술 혹은 행동관찰 실험 최소한 일주일 전부터 환경에 적응시켰다. 모든 실험은 연세대학교 동물관리 윤리위원회에서 정한 규정을 준수하였다.

### 2. 신경병증통증 모델의 제작

신경병증통증 모델은 쥐의 좌측 제5요후근을 절단하고, 6일째 좌측 제5요척수신경을 절단함으로써 제작하였다. 수술은 enflurane 호흡마취(유도 3%, 유지 2%) 하에서 시행하였다. 좌측 제5요후근 절단을 위하여, 수술 부위를 면도한 후 L4에서 L6 까지 피부를 절개하였고, 좌측 L5 부위에 척수후궁절제술(laminectomy)을 시행하였다. 경막(dura matter)을 조금 찢은 후, 노출된 제5요후근을 절단하였다. 제5요척수신경 절단을 위해서는, 요척추(lumbar spine) 상부를 절개하고 제6요척추(L6 vertebra)의 좌측 횡돌기(lateral process)를 노출하였다. 횡돌기를 조심스럽게 제거한 후, 좌측 제5요척수신경을 노출하였다. 6-0 견사를 이용해 노출된 신경을 결찰한 후, 결찰 부위에서 1 mm 정도 원위부를 절단하였다. 상처는 봉합하였으며 수술 후 필요한 조치를 취하였다. 허위실험군에서는 실제 요 후근 및 척수신경 절단 이외의 모든 과정을 동일하게 행하였다.

### 3. 전기자극

전기자극 실험은 쥐의 좌측 제5요후근을 절단하고, 6일째 제5요척수신경을 전기자극 함으로써 시행하였다. Pentobarbital 마취(50 mg/kg, i.p.) 하에서 좌측 제5요척수신경을 위와 동일한 방법으로 노출하였고, parafilm을 노출된 척수신경 밑부분에 삽입함으로써 주변의 연결조직(connective tissue) 및 인접한 다른 신경으로부터 분리하였다. 전기자극은 연발 펄스(train pulses; 0.5 ms, 4 HZ)를 5분간 적용함으로써 시행하였는데, 전기자극 중 발생하는 근육 뒤틀림에 의해 신경이 당겨지거나 손상되는 것을 방지하기 위하여 가늘고 유연한 벌의 온선(지름 0.005 inches, 2-4 mm 간격)을 신경에 접촉시켜 자극하였다. 근육 뒤틀림을 유발하는 가장 낮은 강도의 전기자극을 역치로 정하고 그 역치의 200배 전기자극을 적용하였는데, 이는 2-5 mA 사이에 분포하였으며 일차 구심 C-섬유를 충분히 자극할 수 있는 강도로 알려져 있다. 전기자극 후 상처를 봉합하고 수술 후 필요한 조치를 취하였다. 허위실험군에서는 실제 척수신경에 전기자극을 가하는 이외의 모든 과정을 동일하게 시행하였다.

#### 4. 약물준비

NMDA 수용체 길항제인 MK-801 (dizocilpine maleate)과 AMPA/kainate 수용체 길항제인 NBQX (2,3-dioxo-6-nitro-1,2,3,4-tetrahydrobenzof[quinoxaline-7-sulfonamide)는 생리식염수에 용해하였으며, competitive group-I mGlu 수용체 길항제인 DL-AP3 (DL-amino-3-phosphonopropionic acid)와 selective group-II mGlu 수용체 작용제인 APDC ((2R,4R)-4-aminopyrrolidine-2,4dicarboxylate)는 100 mM NaOH 용액에 먼저 녹인 후 생리식염수를 첨가해 최종 농도로 희석하였다. 모든 약물은 Tocris Cookson (Bristol, UK)에서 구입하였다. 각각의 경우, 약물을 첨가하지 않은 동일 용액을 운반체(vehicle)로 사용하였다.

#### 5. 실험개요

본 실험에서는, 손상 받은 신경에서 중추로 전도되는 신경활동의 역할을 배제한 상태에서 말초로 전도로 역방향 손상방전의 역할을 살펴보기 위하여, 허위그룹을 제외한 모든 실험그룹에서 제5요후근을 미리 절단한 쥐를 이용하였다. 제5요척수신경 손상 혹은 전기자극은 요후근 절단에 의한 일시적 과민통이 완전히 회복되는 6일째 시행함으로써 요후근 절단에 의한 통증반응의 간섭도 배제하였다.

1) **요척수신경 손상:** 척수신경 손상이 장기간 지속되는 기계적 과민통을 유발하는지 조사하였다. 쥐는 다음 두 그룹으로 무작위로 분류하여 실험하였다: 제5요척수신경을 절단한 그룹, 허위실험 그룹.

2) **요척수신경 전기자극:** 요척수신경 전기자극에 의한 인위적 손상방전이 장기간 지속되는 통증 행동을 유발하는지 조사하였다. 쥐는 다음 두 그룹으로 무작위로 분류하여 실험하였다: 제5요척수신경을 전기자극한 그룹, 허위실험 그룹.

3) **전처치 후 요척수신경 손상:** 요척수신경 손상 전에 처치한 약물 혹은 운반체가 척수신경 손상에 의한 기계적 과민통에 미치는 영향을 조사하였다. 쥐를 다음 10 그룹으로 무작위로 분류하여 실험하였다: MK-801, NBQX, DL-AP3 또는 APDC를 동측 발에 투여한 그룹, 동일한 약물을 반대 측 발에 투여한 그룹, 그리고 생리식염수 또는 NaOH를 포함하는 운반체를 동측 발에 투여한 그룹. 약물 혹은 운반체는, enflurane 마취(3%, 2-3 min) 하에서, 28-gauge의 주사바늘이 달린 50  $\mu$ l 헤밀턴 주사기를 이용하여 발바닥 피하에 30  $\mu$ l 부피로 투여하였다. 주사바늘을 발바닥 중앙의 근위부에 삽입한 후 10 mm 정도 중앙부로 전진시켜 투여하였는데, 이때 주입된 약물은 10분 이내에 사라지는 수포(bleb)를 형성하였다. 각 경우 약물 혹은 운반체는 제5요척수신경 손상 15분 전에 투여하였다. 약물 농도는 20 nmol MK-801, 100 nmol NBQX, 70 nmol DL-AP3, 그리고 20 nmol APDC를 사용하였다. 이전의 예비실험에서는 신경손상 15분 전에 투여한 위의 약물들이, NBQX를 제외하고는, 이 농도에서 신경

손상에 의한 기계적 과민통을 가장 효과적으로 지연시킴을 관찰하였고, 과운동(hyper-locomotion) 또는 균형감 상실과 같은 비정상적인 운동활동도 유발하지 않았다.

4) **요척수신경 손상 후 후처치:** 요척수신경 손상 후 기계적 과민통이 이미 발현된 상태에서 투여한 약물 혹은 운반체가 기계적 과민통에 미치는 영향을 조사하였다. 제5요척수신경 손상에 의해 기계적 과민통이 발현된 쥐를 세 번째 실험과 같이 무작위로 분류하여 실험하였다. 각 경우, 이미 3일째 회피역치가 최저수준으로 감소하였으나 42일 이상 장기간 지속되는 만성통증임을 감안하여 신경병증 통증이 충분히 발현되었다고 생각되는 10일째 약물 혹은 운반체를 투여하였다. 세 번째와 네 번째 실험의 경우 약물의 효과가 전신효과(systemic effects)일 가능성을 배제하기 위하여 반대 측 발에 동일한 약물을 투여하는 그룹을 포함하였다.

5) **전처치 후 요척수신경 전기자극:** 요척수신경 전기자극 전에 처치한 약물 혹은 운반체가 척수신경 전기자극에 의한 기계적 과민통에 미치는 영향을 조사하였다. 쥐를 다음 여섯 그룹으로 무작위로 분류하여 실험하였다: MK-801, NBQX, DL-AP3 또는 APDC를 동측 발에 투여한 그룹, 생리식염수 또는 NaOH를 포함하는 운반체를 동측 발에 투여한 그룹. 각 경우 약물 혹은 운반체는 제5요척수신경 전기자극 15분 전에 투여하였다.

6) **요척수신경 전기자극 후 후처치:** 요척수신경 전기자극 후 기계적 과민통이 이미 발현된 상태에서 투여한 약물 혹은 운반체가 기계적 과민통에 미치는 영향을 조사하였다. 제5요척수신경 전기자극에 의해 기계적 과민통이 발현된 쥐를 다섯 번째 실험과 같이 무작위로 분류하여 실험하였다. 각 경우 약물 혹은 운반체는 제5요척수신경 전기자극에 의해 과민통이 충분히 발현된 3일째 투여하였다.

#### 6. 행동관찰 실험

행동관찰 실험은 쥐를 투명한 플라스틱 상자에 30분간 적응시킴으로써 시작하였다. 기계적 과민통은 von Frey filaments 기계자극에 대한 발의 회피반응 역치(paw withdrawal threshold: PWT)를 up-down 방식을 이용하여 측정함으로써 평가하였다. 순차적으로 증가하는 von Frey filaments 기계자극(0.35, 0.53, 0.78, 2.5, 3.7, 5.2, 6.0, 그리고 12.5 g)을 발바닥 중앙에 2-3초간 filament가 휘어질 정도로 가하였는데, 2.5 g의 강도부터 시작하였다. 실험 과정과 기계적 반응 역치의 산출은 Chaplan 등<sup>20)</sup>의 방법을 사용하였다. 모든 행동관찰 실험은 이전의 수술 혹은 약물투여 과정을 알지 못하는 실험자에 의해 진행되었는데, 제5요후근 절단 후에는 1, 3, 6일째 그리고, 제5요척수신경 절단 및 전기자극의 경우 7일까지는 매일 그 이후는 일주일 간격으로 측정하였다.

#### 7. 자료분석과 통계처리

모든 결과 값은 평균  $\pm$  표준오차로 나타내었다. 동일한

그룹의 시간차에 따른 PWT 변화 분석은 Friedman analysis of variance (ANOVA) 그리고 적절한 경우에 Wilcoxon signed-rank test를 시행하였다. 특정한 시간에 각 그룹간의 PWT 차이 분석은 Kruskal-Wallis ANOVA 그리고 적절한 경우에 Mann-Whitney rank-sum test를 시행하였다. P값은 0.05보다 적을 때 통계적으로 유의한 것으로 간주하였으며, Bonferroni correction을 시행하였다.

## 결 과

### 1. 제5요후근 절단 후 제5요척수신경 손상 받은 쥐에서의 기계적 과민통

제5요후근 절단 후 제5요척수신경 손상 받은 쥐 또는 허위수술 받은 대조군의 PWT 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 좌측 제5요후근 절단 후 von Frey filament 자극에 대한 동측 PWT는 하루만에 일시적으로 감소하였으며, 6일째 손상 전 수준으로 회복하였다. 이러한 일시적인 PWT 변화를 보이는 쥐들을 이용하여 이후 실험을 진행하였다. 제5요후근 절단 후 시행한 제5요척수신경 손상은 손상 전 수준과 비교해 유의한 PWT 감소를 유발하였는데( $P < 0.05$ , Friedman ANOVA), 이는 반대측 발 또는 허위실험군과 비교해서도 통계적으로

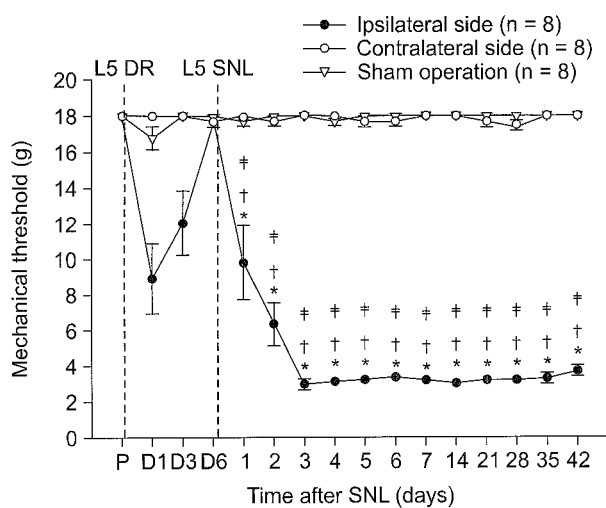


Fig. 1. Time course of changes in paw withdrawal threshold (PWT) in rats that received a spinal nerve lesion (SNL) following dorsal rhizotomy (DR). Unilateral lumbar 5 (L5) DR caused PWT of the affected hind paw to decrease transiently and return to pre-DR baseline on day 6 post-DR. After ipsilateral L5 SNL, performed by L5 spinal nerve ligation-and-cut, PWT dropped rapidly and was maintained at low levels up to day 42 post-SNL (closed circles). P, pre-DR values; D, days after DR. \*, † and ‡, respectively, indicate significantly different from the pre-SNL baseline ( $P < 0.05$ , Friedman ANOVA, followed by Wilcoxon signed-rank test) and from contralateral hind paws (open circles) or sham-operated animals (open triangles) ( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA, followed by Mann-Whitney rank-sum test).

의미 있는 감소였다( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA). PWT는 척수신경손상 후 3일째 최대로 감소하여(손상 전 값인  $17.7 \pm 0.3$  g에서 83.6% 감소,  $n = 8$ ) 42일째까지 유지되었으며, 이는 장기간 지속되는 기계적 과민통이 형성되었음을 의미한다. 반대측 발과 허위실험군은 유의한 PWT 변화를 보이지 않았다.

### 2. 제5요후근 절단 후 제5요척수신경 전기자극 받은 쥐에서의 기계적 과민통

제5요후근 절단 후 제5요척수신경 전기자극 받은 쥐 또는 허위수술 받은 대조군의 PWT 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 좌측 제5요후근 절단 후 von Frey filament 자극에 대한 동측 PWT는 하루 만에 일시적으로 감소하였으며, 6일째 손상 전 수준으로 회복하였다. 이러한 일시적인 PWT 변화를 보이는 쥐들을 이용하여 실험을 진행하였다. 제5요후근 절단 후 시행한 제5요척수신경 전기자극은 자극 후 1, 2, 3, 4, 5, 6 그리고 7일째 전기자극 전 수준과 비교해 유의한 PWT 감소를 유발하였는데( $P < 0.05$ , Friedman ANOVA), 이는 반대측 발 또는 허위실험군과 비교해서도 통계적으로 의미 있는 감소였다( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA). 반대측 발과 허위실험군은 유의한 PWT 변화를 보이지 않았다.

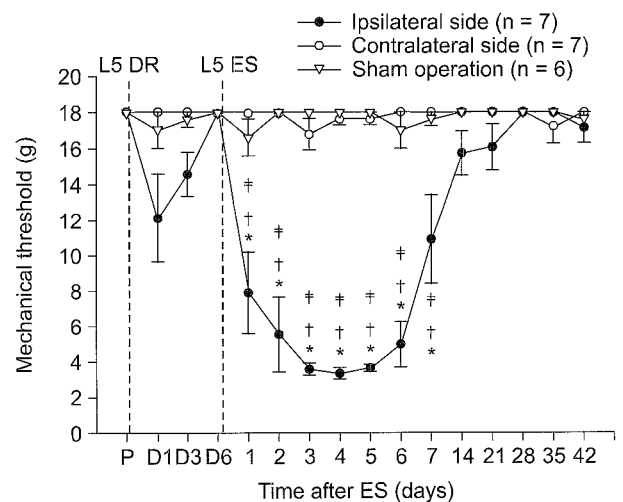


Fig. 2. Time course of changes in paw withdrawal threshold (PWT) in rats that received an electrical stimulation (ES) of spinal nerve following dorsal rhizotomy (DR). Unilateral lumbar 5 (L5) DR caused PWT of the affected hind paw to decrease transiently and return to pre-DR baseline on day 6 post-DR. After ipsilateral L5 ES, PWT dropped rapidly and was maintained at low levels up to day 7 post-ES (closed circles). P, pre-DR values; D, days after DR. \*, † and ‡, respectively, indicate significantly different from the pre-ES baseline ( $P < 0.05$ , Friedman ANOVA, followed by Wilcoxon signed-rank test) and from contralateral hind paws (open circles) or sham-operated animals (open triangles) ( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA, followed by Mann-Whitney rank-sum test).

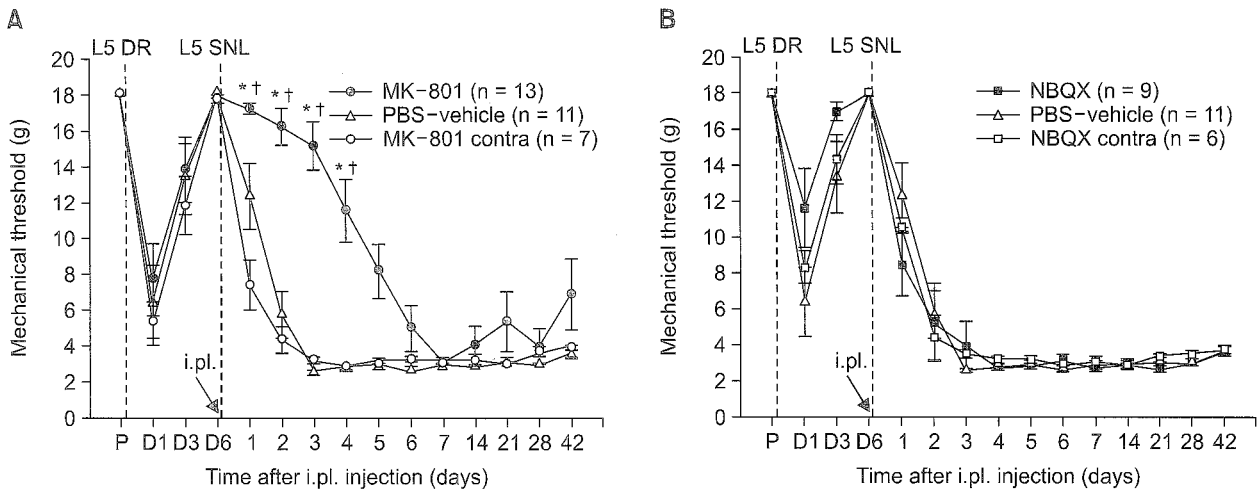


Fig. 3. Effects of MK-801 or NBQX pre-treatment in the periphery on lumbar 5 (L5) spinal nerve lesion (SNL)-induced paw withdrawal threshold (PWT) reduction. (A) An intraplantar injection of MK-801 given before L5 SNL into the affected hind paw (closed circles) resulted in increased PWTs compared with animals treated with PBS-vehicle (open triangles) or with MK-801 in the contralateral hind paw (open circles), as indicated by \* or †, respectively ( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA, followed by Mann-Whitney rank-sum test). (B) The PWTs of animals treated with NBQX before L5 SNL in the affected hind paw (closed rectangles) were similar to those of animals treated with PBS-vehicle (open triangles) or with NBQX in the contralateral hind paw (open rectangles). P: pre-dorsal rhizotomy (DR) values, D: days after DR, i.pl.: intraplantar.

### 3. MK-801, NBQX, DL-AP3 또는 APDC의 전처치가 척수신경 손상에 의한 기계적 과민통에 미치는 영향

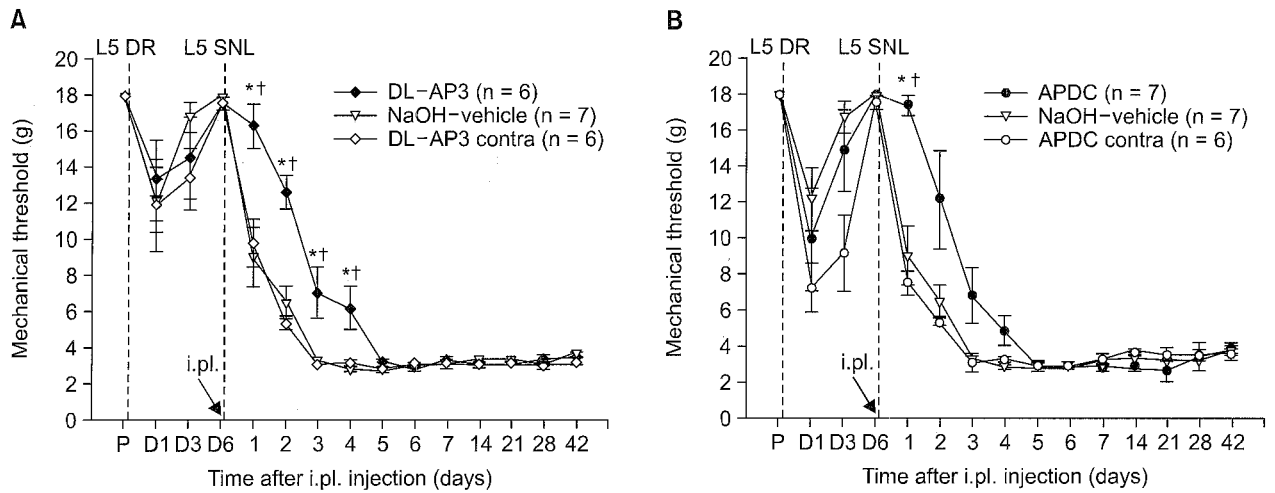
Fig. 3A에 보여진 대로, 20 nmol의 MK-801을 투여한 그룹은 손상 후 1, 2, 3 그리고 4일째 생리식염수 운반체를 투여한 그룹에 비해 유의한 PWT 증가를 나타내었다( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA 후 Mann-Whitney rank-sum test). 이는 반대측 발에 동일 약물을 투여한 그룹과 비교해서도 손상 후 1, 2, 3 그리고 4일째 유의한 증가였다( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA 후 Mann-Whitney rank-sum test). MK-801을 반대측 발에 투여한 그룹과 생리식염수 운반체 투여 그룹은 유의한 PWT 차이를 보이지 않았다. Fig. 3B는 NBQX 전처치 효과를 보여준다. 척수신경 손상 전 동측 발바닥 피하에 100 nmol의 NBQX를 투여한 그룹은, 생리식염수 운반체를 투여한 그룹, 그리고 반대측 발에 동일 약물을 투여한 그룹과 유사한 PWT를 보였다.

Non-selective mGlu 수용체 길항제인 MCPG ( $\alpha$ -methyl-4-carboxyphenylglycine, 50 nmol)는 신경손상에 의한 PWT 감소에 영향을 미치지 않았다(예비실험 결과로서 본 실험의 연구결과에는 제시하지 않았음). 이는 MCPG가 group-I과 group-II mGlu 수용체 활성화를 모두 억제하기 때문일 것으로 생각하였는데, 이들 수용체 활성화는 반대 효과 즉, 신경활성도의 증가 혹은 감소를 야기하는 것으로 알려져 있기 때문이다. 다음 단계로, competitive group-I mGlu 수용체 길항제인 DL-AP3 그리고 selective group-II mGlu 수용체 작용제인 APDC가 PWT에 미치는 영향을 구분하여 조사하였다. Fig. 4A에 보

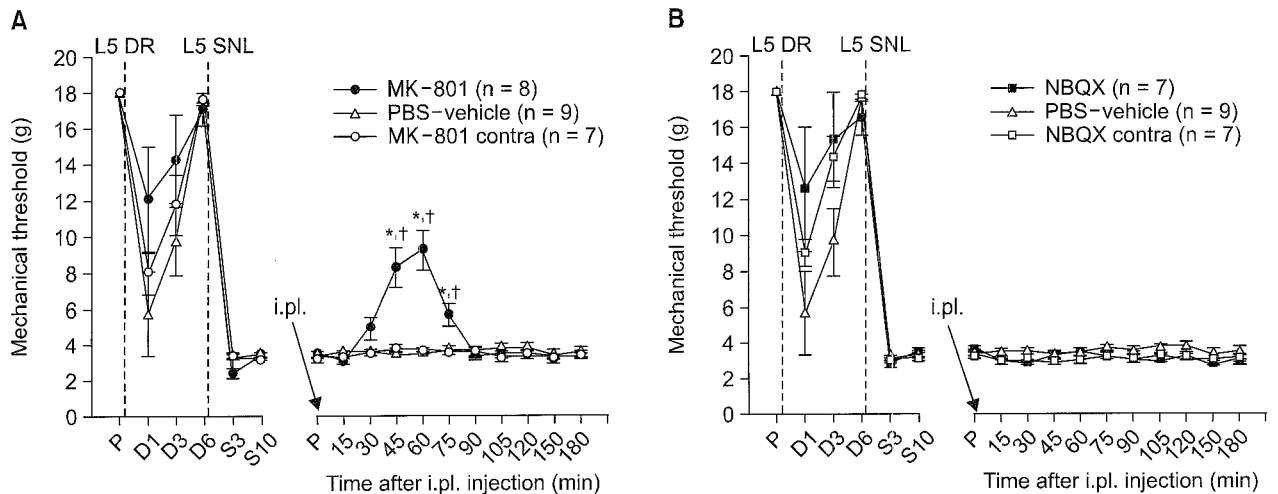
여진 대로, 70 nmol의 DL-AP3를 투여한 그룹은 손상 후 1, 2, 3 그리고 4일째 NaOH를 포함하는 운반체를 투여한 그룹에 비해 유의한 PWT 증가를 나타내었다( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA 후 Mann-Whitney rank-sum test). 이는 반대측 발에 동일 약물을 투여한 그룹과 비교해서도 손상 후 1, 2, 3 그리고 4일째 유의한 증가였다( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA 후 Mann-Whitney rank-sum test). DL-AP3를 반대측 발에 투여한 그룹과 NaOH를 포함하는 운반체 투여 그룹은 유의한 PWT 차이를 보이지 않았다. Fig. 4B는 APDC 전처치 효과를 보여준다. 20 nmol의 APDC를 투여한 그룹은 NaOH를 포함하는 운반체를 투여한 그룹에 비해 손상 후 1일째 유의한 PWT 증가를 나타내었다( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA 후 Mann-Whitney rank-sum test). 이는 반대측 발에 동일 약물을 투여한 그룹과 비교해서도 손상 후 1일째 유의한 증가였다( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA 후 Mann-Whitney rank-sum test). APDC를 반대측 발에 투여한 그룹과 NaOH를 포함하는 운반체 투여 그룹은 유의한 PWT 차이를 보이지 않았다.

### 4. MK-801, NBQX, DL-AP3 또는 APDC의 후처치가 척수신경 손상에 의한 기계적 과민통에 미치는 영향

Fig. 5A에 보여진 대로, 요후근 절단 후 척수신경을 손상한 세 그룹 모두 척수신경 손상 전 수준에 비해 유의한 PWT 감소를 나타내었다( $P < 0.05$ , Friedman ANOVA). 척수신경 손상 후 10일째, 20 nmol의 MK-801을 동측 발바닥에 투여한 그룹은 생리식염수 운반체를 투여한 그룹에 비해



**Fig. 4.** Effects of DL-AP3 or APDC pre-treatment in the periphery on lumbar 5 (L5) spinal nerve lesion (SNL)-induced paw withdrawal threshold (PWT) reduction. (A) Animals that received an intraplantar injection of DL-AP3 before L5 SNL into the affected hind paw (closed diamonds) displayed higher PWTs than those treated with NaOH-vehicle (open triangles) or with DL-AP3 in the contralateral hind paw (open diamonds), as indicated by \* or †, respectively. (B) Animals treated with APDC before L5 SNL in the affected hind paw (closed hexagons) produced higher PWTs than animals treated with NaOH-vehicle (open triangles) or with APDC in the contralateral hind paw (open hexagons), as indicated by \* or †, respectively. \* and †:  $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA, followed by Mann-Whitney rank-sum test. P: pre-dorsal rhizotomy (DR) values, D: days after DR, i.pl.: intraplantar.



**Fig. 5.** Effects of MK-801 or NBQX post-treatment in the periphery on lumbar 5 (L5) spinal nerve lesion (SNL)-induced paw withdrawal threshold (PWT) reduction. The left hand side of each graph shows changes in the PWTs of the three groups of animals that received L5 SNL following L5 dorsal rhizotomy (DR). (A) An intraplantar injection of MK-801 given on day 10 post-SNL into the affected hind paw produced a higher PWT than a PBS-vehicle injection into the affected hind paw or an MK-801 injection into the contralateral hind paw, as indicated by \* or †, respectively ( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA, followed by Mann-Whitney rank-sum test). (B) No PWT difference was observed between animals treated with NBQX on day 10 post-SNL in the affected hind paw and animals treated with PBS-vehicle or with NBQX in the contralateral hind paw. Symbols are as described in Fig. 3. P: pre-DR values, D: days after DR, S: days after SNL, i.pl.: intraplantar.

약물처치 후 45, 60, 75분에 유의한 PWT 증가를 나타내었다( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA 후 Mann-Whitney rank-sum test). 이는 반대측 발에 동일 약물을 투여한 그룹과 비교해서도 약물처치 후 45, 60, 75분에 유의한 증가였다( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA 후 Mann-Whitney rank-sum test).

MK-801을 반대측 발에 투여한 그룹과 생리식염수 운반체 투여 그룹은 유의한 PWT 차이를 보이지 않았다. Fig. 5B는 NBQX 후처치 효과를 보여준다. 척수신경 손상 후 10일째 동측 발바닥 피부에 100 nmol의 NBQX를 투여한 그룹은, 생리식염수 운반체를 투여한 그룹, 그리고 반대측 발에 동

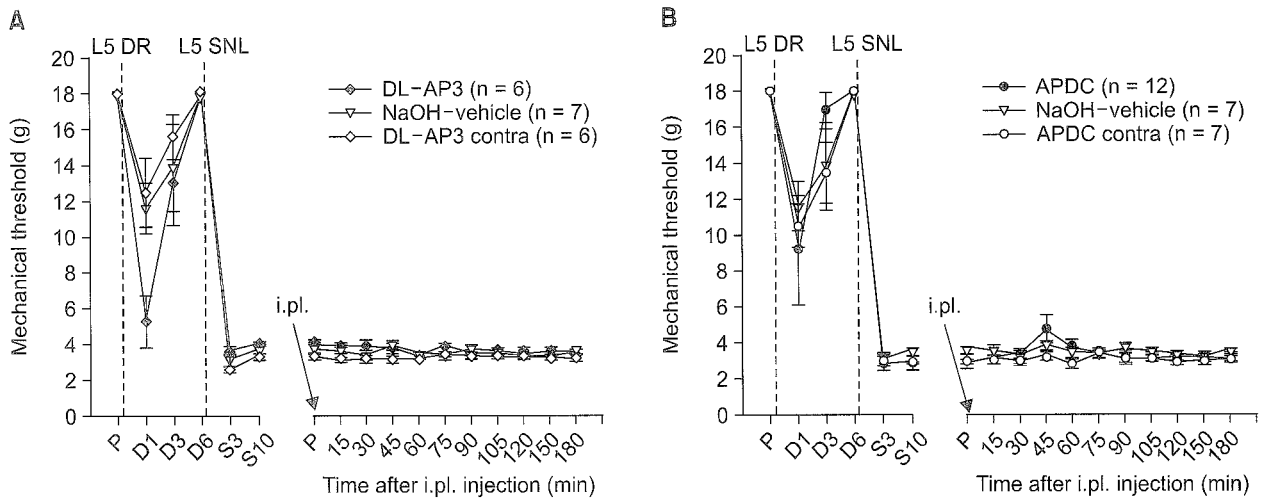


Fig. 6. Effects of DL-AP3 or APDC post-treatment in the periphery on lumbar 5 (L5) spinal nerve lesion (SNL)-induced paw withdrawal threshold (PWT) reduction. Changes in the PWTs of the three groups of animals that received L5 SNL following L5 dorsal rhizotomy (DR) are shown on the left hand side of each graph. (A) An intraplantar injection of DL-AP3 on day 10 post-SNL into the affected hind paw resulted in no PWT differences compared with animals treated with NaOH-vehicle or with DL-AP3 in the contralateral hind paw. (B) No PWT differences were observed between animals treated with APDC on day 10 post-SNL in the affected hind paw and those treated with NaOH-vehicle or with APDC in the contralateral hind paw. Symbols are as described in Fig. 4. P: pre-DR values, D: days after DR, S: days after SNL, i.pl.: intraplantar.

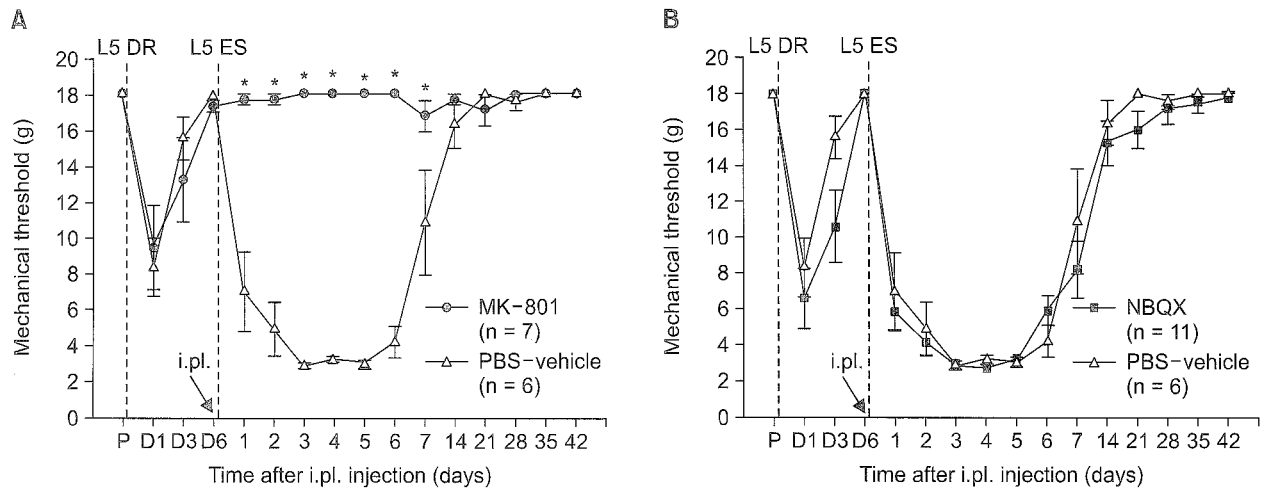


Fig. 7. Effects of MK-801 or NBQX pre-treatment in the periphery on lumbar 5 (L5) electrical stimulation (ES)-induced paw withdrawal threshold (PWT) reduction. (A) An intraplantar injection of MK-801 given before L5 ES into the affected hind paw (closed circles) resulted in increased PWTs compared with animals treated with PBS-vehicle (open triangles), as indicated by asterisks ( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA, followed by Mann-Whitney rank-sum test). (B) The PWTs of animals treated with NBQX before L5 ES in the affected hind paw (closed rectangles) were similar to those of animals treated with PBS-vehicle (open triangles). P: pre-dorsal rhizotomy (DR) values, D: days after DR, i.pl.: intraplantar.

일 약물을 투여한 그룹과 유의한 PWT 차이를 보이지 않았다.

Fig. 6A에 보여진 대로, 척수신경 손상 후 10일째 동측 발바닥 피하에 70 nmol의 DL-AP3를 투여한 그룹은, NaOH를 포함하는 운반체를 투여한 그룹과 유의한 PWT 차이를 보이지 않았으며, 반대측 발에 동일 약물을 투여한 그룹과도 유의하지 않았다. Fig. 6B는 APDC 후처치 효과를 보여준다.

척수신경 손상 후 10일째 동측 발바닥 피하에 20 nmol의 APDC를 투여한 그룹은, NaOH를 포함하는 운반체를 투여한 그룹, 그리고 반대측 발에 동일 약물을 투여한 그룹과 유의한 PWT 차이를 보이지 않았다.

**5. MK-801, NBQX, DL-AP3 또는 APDC의 전처치가 척수신경 전기자극에 의한 기계적 과민통에 미치는 영향**

Fig. 7A에 보여진 대로, 20 nmol의 MK-801을 투여한 그룹은 손상 후 1, 2, 3, 4, 5, 6 그리고 7일째 생리식염수 운반체를 투여한 그룹에 비해 유의한 PWT 증가를 나타내었다

( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA 후 Mann-Whitney rank-sum test). Fig. 7B는 NBQX 전처치 효과를 보여준다. 척수신경 전기자극 전 동측 발바닥 피하에 100 nmol의 NBQX를 투여한 그룹은 생리식염수 운반체를 투여한 그룹과 유사한 PWT를 보였다.

Fig. 8A에 보여진 대로, 70 nmol의 DL-AP3를 투여한 그룹은 전기자극 후 1, 2, 3, 4, 5, 6 그리고 7일째 NaOH를 포함

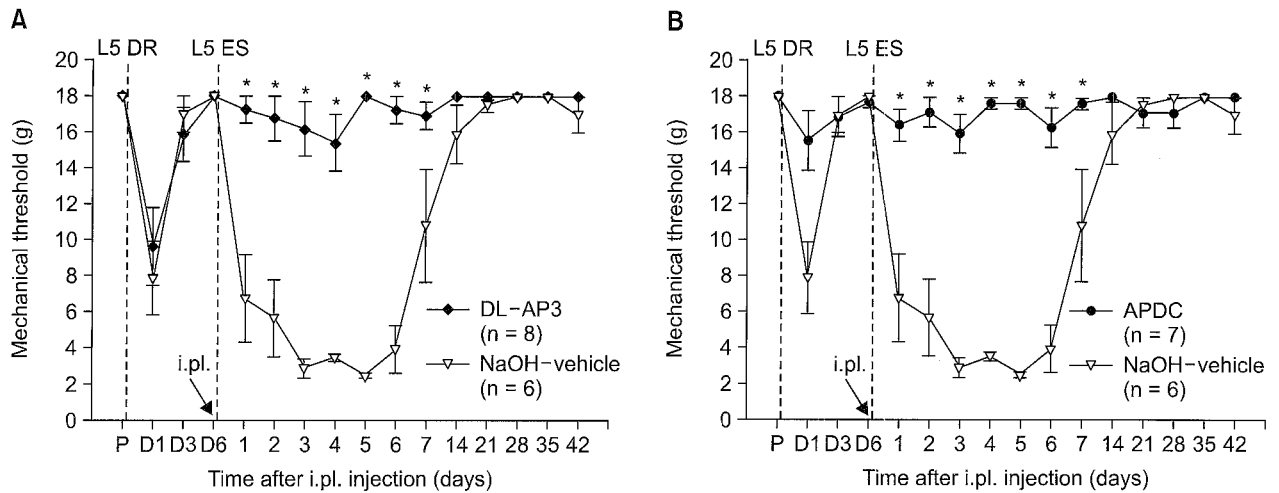


Fig. 8. Effects of DL-AP3 or APDC pre-treatment in the periphery on lumbar 5 (L5) electrical stimulation (ES)-induced paw withdrawal threshold (PWT) reduction. (A) Animals that received an intraplantar injection of DL-AP3 before L5 ES into the affected hind paw (closed diamonds) displayed higher PWTs than those treated with PBS-vehicle (open triangles), as indicated by asterisks. (B) Animals treated with APDC before L5 ES in the affected hind paw (closed hexagons) produced higher PWTs than animals treated with NaOH-vehicle (open triangles), as indicated by asterisks ( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA, followed by Mann-Whitney rank-sum test). P: pre-dorsal rhizotomy (DR) values, D: days after DR, i.pl.: intraplantar.

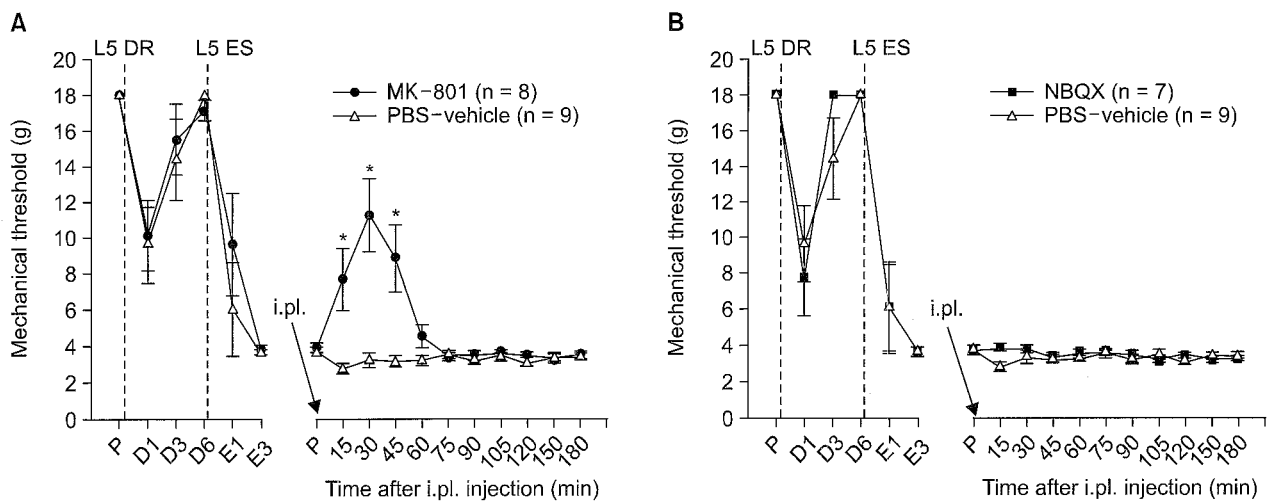


Fig. 9. Effects of MK-801 or NBQX post-treatment in the periphery on lumbar 5 (L5) electrical stimulation (ES)-induced paw withdrawal threshold (PWT) reduction. The left hand side of each graph shows changes in the PWTs of the two groups of animals that received L5 ES following L5 dorsal rhizotomy (DR). (A) An intraplantar injection of MK-801 given on day 3 post-ES into the affected hind paw produced a higher PWT than a PBS-vehicle injection into the affected hind paw, as indicated by asterisks ( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA, followed by Mann-Whitney rank-sum test). (B) No PWT difference was observed between animals treated with NBQX on day 3 post-ES in the affected hind paw and animals treated with PBS-vehicle. Symbols are as described in Fig. 7. P: pre-DR values, D: days after DR, E: days after ES, i.pl.: intraplantar.



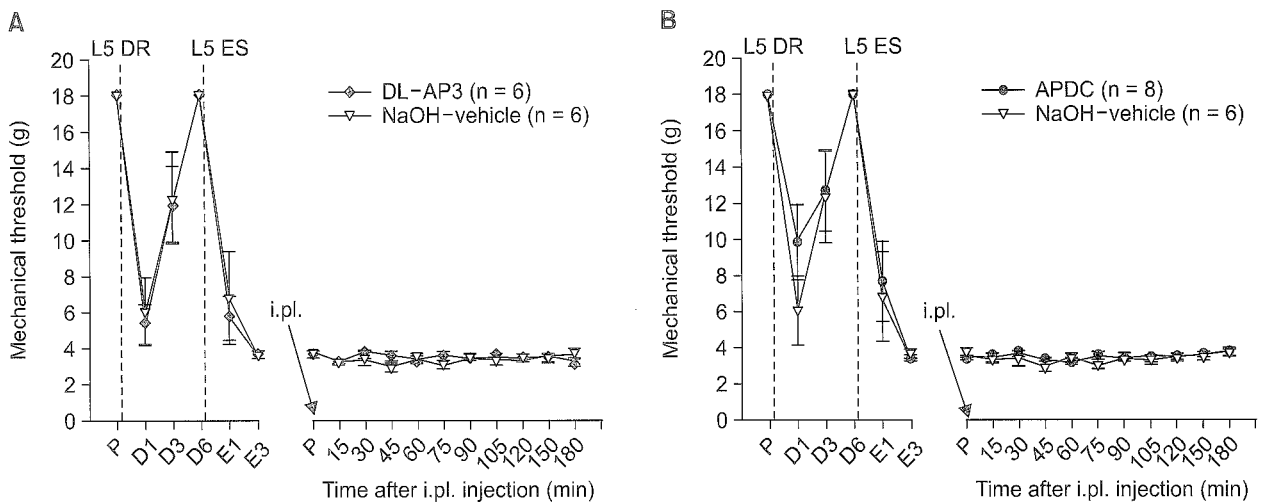


Fig. 10. Effects of DL-AP3 or APDC post-treatment in the periphery on lumbar 5 (L5) electrical stimulation (ES)-induced paw withdrawal threshold (PWT) reduction. Changes in the PWTs of the two groups of animals that received L5 ES following L5 dorsal rhizotomy (DR) are shown on the left hand side of each graph. (A) An intraplantar injection of DL-AP3 on day 3 post-ES into the affected hind paw resulted in no PWT differences compared with animals treated with NaOH-vehicle. (B) No PWT differences were observed between animals treated with APDC on day 3 post-ES in the affected hind paw and those treated with NaOH-vehicle. Symbols are as described in Fig. 8. P: pre-DR values, D: days after DR, E: days after ES, i.pl.: intraplantar.

하는 운반체를 투여한 그룹에 비해 유의한 PWT 증가를 나타내었다( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA 후 Mann-Whitney rank-sum test). Fig. 8B는 APDC 전처치 효과를 보여준다. 20 nmol의 APDC를 투여한 그룹은 전기자극 후 1, 2, 3, 4, 5, 6 그리고 7일째 NaOH를 포함하는 운반체를 투여한 그룹에 비해 유의한 PWT 증가를 나타내었다( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA 후 Mann-Whitney rank-sum test).

### 6. MK-801, NBQX, DL-AP3 또는 APDC의 후처치가 척수 신경 전기자극에 의한 기계적 과민통에 미치는 영향

Fig. 9A에 보여진 대로, 요후근 절단 후 척수신경을 전기 자극 한 두 그룹 모두 전기자극 전 수준에 비해 유의한 PWT 감소를 나타내었다( $P < 0.05$ , Friedman ANOVA). 척수 신경 전기자극 후 3일째, 20 nmol의 MK-801을 동측 발바닥에 투여한 그룹은 약물처치 후 15, 30, 45분에 생리식염수 운반체를 투여한 그룹에 비해 유의한 PWT 증가를 나타내었다( $P < 0.05$ , Kruskal-Wallis ANOVA 후 Mann-Whitney rank-sum test). Fig. 9B는 NBQX 후처치 효과를 보여준다. 척수 신경 전기자극 후 3일째 동측 발바닥 피하에 100 nmol의 NBQX를 투여한 그룹은, 생리식염수 운반체를 투여한 그룹과 유의한 PWT 차이를 보이지 않았다.

Fig. 10A에 보여진 대로, 척수신경 전기자극 후 3일째 동측 발바닥 피하에 70 nmol의 DL-AP3를 투여한 그룹은, NaOH를 포함하는 운반체를 투여한 그룹과 유의한 PWT 차이를 보이지 않았다. Fig. 10B는 APDC 후처치 효과를 보여준다. 척수신경 전기자극 후 3일째 동측 발바닥 피하에 20 nmol의 APDC를 투여한 그룹은, 생리식염수 운반체를 투여

한 그룹과 유의한 PWT 차이를 보이지 않았다.

## 고 찰

본 실험에서는 제5요후근을 미리 절단함으로써 척수로 전도되는 손상방전 혹은 이소 신경활동을 미리 차단한 상황에서도 제5요척수신경 손상이 42일 이상 지속되는 기계적 과민통을 생성함을 보여주었는데, 이는 말초수준에서 신경손상에 의한 변화가 기계적과민통 생성에 중요한 역할을 함을 의미한다. 더욱이, 제5요후근을 절단한 상황에서 손상방전을 모방하여 제5요척수신경에 가해진 전기자극에 의해 7일 이상 지속되는 기계적 과민통이 생성되었고 이는 전기 자극 직전에 발바닥 피하에 투여한 MK-801, DL-AP3 그리고 APDC에 의해 그 개시가 완전히 억제됨을 관찰하였는데, 이러한 결과들은 말초로 전도되는 역방향 손상방전이 신경손상에 의한 기계적 과민통의 유도에 공헌함을 제시한다. 신경손상에 의해 말초에서 유발되는 변화로서는 이러한 역방향 손상방전 뿐 아니라, 신경손상에 의해 알라리 변성을 일으키는 손상신경섬유와 인접해 있는 비손상 섬유에서 유발되어 말초 및 중추로 전도되는 자발적 신경활동도 생각할 수 있다. 후자를 지지하는 근거로서 신경손상 후 인접한 비손상 신경에서 자발적 신경활동이 기록되었음이 보고된 바 있다.<sup>17-19)</sup> 본 실험에서는 뒷발에 처리한 MK-801, DL-AP3 그리고 APDC의 전처치가 앞서 언급한 바와 같이 전기자극(손상방전 모방) 유발 기계적과민통은 완전히 억제하였으나 신경손상 유발 기계적과민통은 수 일 동안만 억제하였고 그 후에는 억제력이 상실되었다. 이들 결과는 신경손상 유발

기계적과민통의 생성에 있어서 손상섬유에서 생성되어 말초로 전도되는 손상반전은 초기에 관여하며 그 이후에는 비손상 신경에서 생성되는 자발적 신경활동이 기여할 것임을 시사한다. 신경손상 시 이웃한 비손상 통각섬유에서 유도되는 것으로 알려진<sup>19)</sup> 역치(threshold) 이하 또는 자극에 대한 항진된 반응 역시 뒤늦게 발현되는 기계적 과민통에 기여할 수 있을 것이다.

신경손상에 의해 생성되어 일차구심섬유를 따라 말초로 전도되는 역방향 신경활동에 의해 이들 섬유의 말초 쪽 말단에서는 glutamate가 방출될 것이다. 실제로 일차구심섬유의 전기자극은 말초에 glutamate 방출을 유도하는 것으로 보고 되었다.<sup>6)</sup> 더욱이, glutamate 수용체의 다양한 아강(subclass)이 일차구심섬유의 말초 돌기(peripheral process)에 존재하는 것이 알려졌다.<sup>7,8,10,14)</sup> 이전의 많은 보고들은 척수 내의 glutamate 수용체의 다양한 아강이 신경병증통증에 기여함을 보여줌으로써, 중추신경계에 존재하는 glutamate가 신경병증통증에 결정적으로 중요한 역할을 함을 제시하였다.<sup>3,21-24)</sup> 하지만, 말초 glutamate가 신경병증통증에 기여함을 보여주는 증거들은 지금까지 전무한 실정이다. 본 실험에서는 특정한 glutamate 수용체의 작용을 뒷받침하여 국소적으로 차단하였을 때, 제5요추근 절단 후 실시한 제5요척수신경 손상에 의한 기계적 과민통이 완화되는 것을 관찰하였는데, 이는 glutamate가 말초에 있는 자신의 수용체를 통해 신경병증통증의 생성에 기여함을 제시한다.

본 연구의 제5요추근 절단 모델 쥐를 이용한 실험에서 제5요척수신경손상 유발 과민통은 신경손상 직전에 발바닥 피하에 처리해준 MK-801에 의해서는 그 생성이 지연되었으며, 과민통이 유발된 후에 동일하게 처리해준 MK-801에 의해서는 통증이 억제됨을 보였다. 그러나 마찬가지로 방법으로 처리한 NBQX에 의해서는 두 경우 모두 효과가 없었다. 이들 실험결과는 NMDA 수용체가 신경병증통증의 개시와 유지에 기여하는 반면, AMPA/kainate 수용체는 그렇지 않음을 보여준다. 앞에서 언급하였듯이 NMDA 수용체는 일차구심섬유의 말초 돌기에 존재하므로 손상 받은 구심섬유에서 말초로 방출된 glutamate가 인접한 비손상 신경섬유, 특히 통각섬유(nociceptive fibers)의 말초 종말에 위치한 NMDA 수용체에 작용하여 그것을 민감화 시킴으로써 신경병증통증의 생성에 관여하는 것으로 생각된다. 이러한 추측은 피부 통각섬유가 정상 상황 하에서 glutamate,<sup>25)</sup> 또는 염증상황 하에서 NMDA에<sup>26)</sup> 노출되었을 때 민감화 된다는 이전의 보고들에 의해 지지 받을 수 있다.

말초 glutamate가 비손상 통각섬유의 민감화를 유도하는데 관한 세포 내 기전은 잘 알려져 있지 않지만, NMDA 수용체를 통해 유입되는  $Ca^{2+}$ 에 의한 신경활동 증가에 관여한다고 알려진  $Ca^{2+}$  의존적 protein kinase C (PKC)의 역할을 고려해 볼 수 있다. 기계적 반응도를 보이는 배양한 쥐 후근 절세포를 이용하여 반응도를 세포 내부로의 일시적인  $Ca^{2+}$

유입으로서 측정된 실험에서 NMDA 수용체 활성화는  $Ca^{2+}$  유입을 증가시켰는데, 이러한 증가는 PKC를 억제하는 약물에 의해 억제되었고 PKC를 활성화하는 약물에 의해 모방됨을 보였다.<sup>27)</sup> 또한, 배양한 쥐의 후근절세포 중 capsaicin에 민감한(capsaicin-sensitive) 경우,  $Ca^{2+}$  유입을 통해 PKC를 활성화하는 약물 처리가 외향성  $K^{+}$  전류를 억제함을 보였는데<sup>28)</sup> 이 결과 역시 통각섬유의 기계적 민감화에 있어서  $Ca^{2+}$  의존적 PKC의 역할을 지지한다.

말초에 투여한 NBQX가 신경병증통증을 완화하지 못한다는 본 실험의 결과는, 포르말린의 피하주사에 의해 짧은 시간 동안 급하게 유도되는 급성통증이 통증부위 주변에 국소적으로 처리한 CNQX (AMPA/kainate 수용체의 또 다른 길항제)에 의해 완화된다는 보고<sup>29)</sup>와는 일치하지 않는다. 하지만, 이는 Freund's complete adjuvant<sup>30)</sup>나 벌독(bee venom)<sup>31)</sup>의 피하주사에 의해 생성되어 장기적으로 지속되는 만성통증이 통증부위 주변에 처리한 MK-801에 의해 완화되었고 CNQX에 의해서는 영향 받지 않았다는 기존의 실험결과와는 일치한다. 이러한 실험결과들 간의 불일치에 관한 설명으로서 말초 glutamate가 병적 통증의 생성에 미치는 영향이 급성통증과 만성통증 상황 하에서 서로 다르기 때문일 것임을 제시할 수 있다. 즉 말초 glutamate가 급성통증의 경우 NMDA와 AMPA/kainate 수용체 모두에 작용함으로써 통증생성에 기여하지만, 척수신경 손상에 의한 기계적 과민통과 같은 만성통증의 경우에는 주로 NMDA 수용체를 통해 공헌할 것으로 생각한다.

mGlu 수용체들은 중추신경계에 넓게 분포하며, 신경세포의 흥분성과 시냅스 전도(synaptic transmission)를 조절하는 것으로 알려져 있다. 이전의 mGlu 수용체 연구에 의하면, group-I mGlu 수용체는 세포 내에 저장된 칼슘을 방출시키는 phospholipase C 활성화와 연결되어 있으며, protein kinase C의 활성화와도 연결되어 있다고 알려졌다.<sup>32,33)</sup> 반면, group-II mGlu 수용체는 adenylyl cyclase 활성화에 역으로(negatively) 연결되어 있으며 이는 cyclic AMP 생성을 감소시키는 것으로 관찰되었다.<sup>32)</sup> 따라서, group-I mGlu 수용체의 활성화는 신경세포의 흥분성을 증가시키는 반면 group-II mGlu 수용체의 활성화는 신경세포의 활성화를 감소시킨다. 또한 최근 보고에 의하면 말초의 mGlu 수용체는 통각과정을 조절하는데 매우 중요한 역할을 함을 제시한다. 즉, 해부학적 연구에서는 group-I과 group-II 수용체 모두 말초 통각 섬유에 위치함을 보여주었고,<sup>9-11)</sup> 행동학적 연구에 의하면 group-I mGlu 수용체 작용제의 발바닥 피하주사가 통증 행동을 유발하였고 이는 적절한 길항제 투여에 의해 차단되었다.<sup>9,11)</sup> 이들 결과와 일치되게 본 실험의 결과는 말초의 group-I mGlu 수용체의 활동을 막으면 신경병증통증의 유도를 예방할 수 있음을 제시하는데, group-I mGlu 수용체의 길항제인 DL-AP3를 척수신경 손상 전에 뒷발에 국소적으로 처리하면 척수신경 손상에 의한 기계적 과민통의 개시가 지연되었다. 흥미롭게도, 발바닥

피하에 주사한 group-II mGlu 수용체의 작용제인 APDC 또한 기계적 과민통의 개시를 지연시켰는데, 이는 group-II mGlu 수용체의 활성화가 신경병증통증의 유도를 방지할 수 있음을 제시한다. 이와 비슷한 결과들이 보고되었는데, 복강(intra-peritoneal)<sup>23)</sup> 혹은 수막강 내에<sup>34)</sup> 투여한 group-II mGlu 수용체 작용제가 신경병증통증을 완화하는 것으로 알려졌다. 신경병증통증의 유도시기에 말초로 방출된 glutamate에 의한 group-I mGlu와 group-II mGlu 수용체의 동시 활성화는 신경병증통증의 생성에 효과가 없을 것으로 추측된다. 왜냐하면, 말초 group-I mGlu 수용체 활성화는 신경병증통증의 유도를 촉진하는 반면 group-II mGlu 수용체 활성화는 그 유도를 억제하기 때문이다. 그럼에도 불구하고, 이들 결과는 group-I mGlu 수용체의 길항제와 group-II mGlu 수용체의 작용제가 신경병증통증 치료에 유용할 수 있음을 제안한다.

제5요후근 절단 후 가해 준 제5요척수신경 손상에 의한 기계적 과민통의 생성에는 두 가지 신경임펄스가 관여하는 것으로 생각된다. 첫째는, 신경손상 초기에 손상 받은 신경섬유에서 발생하여 말초로 전도되는 역방향 손상방전이다. 둘째는, 손상 받은 신경섬유(제5요척수신경에 포함) 근처에 위치한 비손상 신경섬유(제4요척수신경에 포함)에서 발생할 것으로 생각되는 자발적 신경방전인데, 이는 손상 받은 신경섬유의 알레리 변성에 의한 것으로 신경손상 수일 후에 일어나는 것으로 생각된다. 이러한 종류의 자발적 신경방전은 이미 보고된 바 있다.<sup>18)</sup> 초기의 역방향 손상방전은 말초에 glutamate를 방출함으로써 인접한 비손상 구심 통각섬유 말단(통각수용기)를 민감화 시키고, 결과적으로 기계적 과민통의 유도에 기여할 것이다. 또한 이보다 늦게 발생하는 비손상 섬유에서의 자발적 신경방전은 제4요척수신경과 제4요후근을 통해 척수로 전도되어 중추 민감화를 유도할 뿐만 아니라, 말초 쪽으로 전도되어 주변 비손상 통각수용기의 민감화를 유도함으로써 기계적 통각과민 생성에 기여할 것으로 생각된다. 본 실험에서는 NMDA 수용체 길항제를 척수신경 손상 전 발바닥 피하에 일회 투여하였을 때 2-4일 지속되는 진통효과를 나타냄을 보여주었는데, 이는 신경손상 초기 단계에 말초에 방출되는 glutamate의 작용을 막아주면, 수일 후에 일어나는 두 번째 요소(비손상 섬유에서의 자발적 신경방전)에 의해 기계적 과민통이 유발될 때까지, 기계적 과민통의 유도를 막아줄 수 있음을 의미한다.

요약하면, 본 실험에서는 제5요후근을 미리 절단함으로써 중추로 전도되는 신경활동을 미리 막은 쥐를 이용하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 제5요척수신경에 가해 준 신경손상은 동측 발의 과민통반응을 유발하였는데, 이는 실험기간 42일 내내 유지되었다. 제5요척수신경에서 생성되는 손상방전을 모방하기 위한 짧은 시간의 전기자극 역시 과민통반응을 유발하였는데, 이는 7일 동안 유지되었다. 신경손상 직전에 발바닥 피하에 투여한 NMDA 수용체 길항제인 MK-801, group-I mGlu 수용체 길항제인 DL-AP3, 그리고 group-II

mGlu 수용체 작용제인 APDC는 기계적 과민통의 개시를 지연시켰다. 전기자극에 의한 기계적 과민통의 경우, 위와 동일한 약물들은 전기자극 후 42일째까지 기계적 과민통의 유도를 완전히 차단하였다. AMPA/kainate 수용체 길항제인 NBQX를 위와 동일하게 전처치하였을 때는, 척수신경 손상 혹은 전기자극에 의한 기계적 과민통의 유도에 아무런 영향을 미치지 않았다. 척수신경 손상에 의한 기계적 과민통이 이미 발현된 후에 약물을 투여한 경우, MK-801은 약 45분 정도 기계적 과민통을 완화하였으나, NBQX, DL-AP3, 또는 APDC는 효과가 없었다. 전기자극에 의해 기계적 과민통이 이미 발현된 상황에서 투여한 경우에도 동일한 결과를 얻었다. 이들 결과에 기초하면, 1) 신경손상에 의해 말초로 전도되는 신경활동이 신경병증 통증의 생성에 중요한 역할을 하며, 2) 말초 glutamate 수용체가 이러한 통증을 매개하는데 포함되어 있음을 제안할 수 있다. 말초 glutamate 수용체의 여러 아류(subtype)의 제어는 신경병증 통증의 치료를 위한 좋은 방법일 수 있다.

## 참 고 문 헌

1. Wall PD, Waxman S, Basbaum AI: Ongoing activity in peripheral nerve: injury discharge. *Exp Neurol* 1974; 45: 576-89.
2. Gonzales-Darder JM, Barbera J, Abellan MJ: Effect of prior anesthesia on autotomy following sciatic transection in rats. *Pain* 1986; 24: 87-91.
3. Seltzer Z, Beilin B, Ginzburg R, Paran Y, Shinko T: The role of injury discharge in the induction of neuropathic pain behavior in rats. *Pain* 1991; 46: 327-36.
4. Seltzer Z, Cohn S, Ginzburg R, Beilin B: Modulation of neuropathic pain behavior in rats by spinal disinhibition and NMDA receptor blockade of injury discharge. *Pain* 1991; 45: 69-75.
5. Vatine JJ, Argov R, Seltzer Z: Brief electrical stimulation of c-fibers in rats produces thermal hyperalgesia lasting weeks. *Neurosci Lett* 1998; 125-8.
6. deGroot J, Zhou S, Carlton SM: Peripheral glutamate release in the hind paw following low and high intensity sciatic stimulation. *Neuroreport* 2000; 11: 497-502.
7. Carlton SM, Hargett GL, Coggeshall RE: Localization and activation of glutamate receptors in unmyelinated axons of rat glabrous skin. *Neurosci Lett* 1995; 197: 25-8.
8. Coggeshall RE, Carlton SM: Ultrastructural analysis of NMDA, AMPA, and Kainate receptors on unmyelinated and myelinated axons in the periphery. *J Comp Neurol* 1998; 391: 78-86.
9. Bhave G, Karim F, Carlton SM, Gereau IV RW: Peripheral group I metabotropic glutamate receptors modulate nociception in mice. *Nat Neurosci* 2001; 4: 417-23.
10. Carlton SM, Hargett GL, Coggeshall RE: Localization of metabotropic glutamate receptors 2/3 on primary afferent axons in the rat. *Neuroscience* 2001; 105: 957-69.
11. Walker K, Reeve A, Bowes M, Winter J, Wotherspoon G, Davis A, et al: mGlu5 receptors and nociceptive function II. mGlu5 receptors functionally expressed on peripheral sensory neurons mediate inflammatory hyperalgesia. *Neuropharmacology* 2001; 40: 10-9.

12. Carlton SM, Zhou S, Coggeshall RE: Evidence for the interaction of glutamate and NK1 receptors in the periphery. *Brain Res* 1998; 790: 160-9.
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. Zhou S, Komak S, Du J, Carlton SM: Metabotropic glutamate 1a receptors on peripheral primary afferent fibers: their role in nociception. *Brain Res* 2001; 913: 18-26.
15. Zhou S, Bonasera L, Carlton SM: Peripheral administration of NMDA, AMPA or KA results in pain behaviors in rats. *Neuroreport* 1996; 7: 895-900.
16. Jang JH, Nam TS, Paik KS, Leem JW: Involvement of peripherally released substance P and calcitonin gene-related peptide in mediating mechanical hyperalgesia in a traumatic neuropathy model of the rat. *Neurosci Lett* 2004; 360: 129-32.
17. Wu G, Ringkamp M, Hartke TV, Murinson BB, Campbell JN, Griffin JW, et al: Early onset of spontaneous activity in uninjured C-fiber nociceptors after injury to neighboring nerve fibers. *J Neurosci* 2001; 21: RC140.
18. Wu G, Ringkamp M, Murinson BB, Pogatzki EM, Hartke TV, Weerahandi HM, et al: Degeneration of myelinated errerent fibers induces spontaneous activity in uninjured C-fiber afferents. *J Neurosci* 2002; 22: 7746-53.
19. Shim B, Kim DW, Kim BH, Nam TS, Leem JW and Chung JM: Mechanical and heat sensitization of cutaneous nociceptors in rats with experimental peripheral neuropathy. *Neuroscience* 2005; 132: 193-201.
20. Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL: Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Methods* 1994; 53: 55-63.
21. Fisher K, Fundytus ME, Cahill CM, Coderre TJ: Intrathecal administration of mGluR compound, (S)-4CPG, attenuates hyperalgesia and allodynia associated with sciatic nerve constriction injury in rats. *Pain* 1998; 77: 59-66.
22. Mao J, Price DD, Hayes RL, Lu J, Mayer DJ, Frenk H: Intrathecal treatment with dextrorphan or ketamine potently reduces pain-related behaviors in a rat model of peripheral mononeuropathy. *Brain Res* 1993; 605: 164-8.
23. Simmons RMA, Webster AA, Kalra AB, Iyengar S: Group II mGluR receptor agonists are effective in persistent and neuropathic pain models in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2002; 73: 419-27.
24. Tal M, Bennett GJ: Neuropathic pain sensations are differentially sensitive to dextrorphan. *Neuroreport* 1994; 5: 1438-40.
25. Du J, Koltzenburg M, Carton S: Glutamate-induced excitation and sensitization of nociceptors in rat glabrous skin. *Pain* 2001; 89: 187-98.
26. Du J, Zhou S, Coggeshall RE, Carlton SM: N-methyl-D-aspartate-induced excitation and sensitization of normal and inflamed nociceptors. *Neuroscience* 2003; 118: 547-62.
27. Chaban VV, Li J, Ennes HS, Nie J, Mayer EA, Mcroberts JA: N-methyl-D-aspartate receptors enhance mechanical responses and voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channels in rat dorsal root ganglia neurons through protein kinase C. *Neuroscience* 2004; 128: 347-57.
28. Zhang YH, Kenyon JL, Nocol GD: Phorbol ester-induced inhibition of potassium currents in rat sensory neurons requires voltage-dependent entry of calcium. *J Neurophysiol* 2001; 85: 362-73.
29. Davidson EM, Coggeshall RE, Carlton SM: Peripheral NMDA and non-NMDA glutamate receptors contribute to nociceptive behaviors in the rat formalin test. *Neuroreport* 1997; 8: 941-6.
30. Leem JW, Hwang JH, Hwang SJ, Park H, Kim Mk, Choi Y: The role of N-methyl-D-aspartate receptors in Freund's complete adjuvant induced mechanical hyperalgesia in rats. *Neurosci Lett* 2001; 297: 155-8.
31. You HJ, Chen J, Morch CD, Arendt-Nielsen L: Differential effect of peripheral glutamate (NMDA, non-NMDA) receptor antagonists on bee venom-induced spontaneous nociception and sensitization. *Brain Res Bull* 2002; 58: 561-7.
32. Conn PJ, Pin JP: Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997; 37: 205-37.
33. Pin JP, Duvoisin R: Review: Neurotransmitter receptors I, The metabotropic glutamate receptors: structure and functions. *Neuropharmacology* 1995; 34: 1-26.
34. Fisher K, Lefebvre C, Coderr TJ: Antinociceptive effects following intrathecal pretreatment with selective metabotropic glutamate receptor compounds in a rat model of neuropathic pain. *Pharmacol Biochem Behav* 2002; 73: 411-8.