

Glia Dose not Participate in Antinociceptive Effects of Gabapentin in Rats with Trigeminal Neuropathic Pain

Kui Y. Yang¹, Hak K. Kim¹, Myoung U. Jin², Jin S. Ju¹, and Dong K. Ahn^{1*}

¹Department of Oral Physiology,

²Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Kyungpook National University, Daegu (700-412), Korea

(received August 30, 2012 ; revised September 12, 2012 ; accepted September 12, 2012)

Previous clinical studies have demonstrated that gabapentin, a drug that binds to the voltage-gated calcium channel $\alpha 2\delta 1$ subunit proteins, is effective in the management of neuropathic pain, but there is limited evidence that addresses the participation of glial cells in the anti-allodynic effects of this drug. The present study investigated the participation of glial cells in the anti-nociceptive effects of gabapentin in rats with trigeminal neuropathic pain produced by mal-positioned dental implants. Under anesthesia, the left mandibular second molar was extracted and replaced by a miniature dental implant to induce injury to the inferior alveolar nerve. Mal-positioned dental implants significantly decreased the air-puff thresholds both ipsilateral and contralateral to the injury site. Gabapentin was administered intracisternally beginning on postoperative day (POD) 1 or on POD 7 for three days. Early or late treatment with 0.3, 3, or 30 μg of gabapentin produced significant anti-allodynic effect in the rats with mal-positioned dental implants. On POD 9, in the mal-positioned dental implants group, OX-42, a microglia marker, and GFAP, an astrocyte marker, were found to be up-regulated in the medullary dorsal horn, compared with the naive group. However, the intracisternal administration of gabapentin (30 μg) failed to reduce the number of activated microglia or astrocytes in the medullary dorsal horn. These findings suggest that gabapentin produces significant anti-

nociceptive effects, which are not mediated by the inhibition of glial cell function in the medullary dorsal horn, in a rat model of trigeminal neuropathic pain.

Key words: dental implant, gabapentin, glia, inferior alveolar nerve, neuropathic pain

서 론

가바펜틴(gabapentin)은 gamma-aminobutyric acid(GABA)와 유사한 구조를 가지는 GABA 유도체[1]로 개발되어 근육강직을 치료하기 위해 사용되었다. 그러나 많은 임상 연구들에 의해 항경련제로서 효과가 있는 것이 밝혀졌고 [2] 최근에는 신경병증 통증에도 효과가 있다는 것을 밝혔다. 현재 가바펜틴은 신경병증 통증을 치료하는 1차적 약물로서 사용되고 있으며[3], 대상포진후 신경통[4], 당뇨병성 신경병증[5], 섬유근통 증후군[6] 등에서 통증을 억제하는 효과를 보여주고 있다. 또한 실험동물 흰 쥐에서 척수신경을 결찰하여 유발되는 열통증과 기계적 이질통증을 가바펜틴 투여로 유의하게 감소시켰다는 보고[7-9]는 신경병증 통증의 치료제로서의 가바펜틴의 효과를 증명하고 있다.

가바펜틴의 진통 작용은 축삭말단의 시냅스막에 존재하는 전압의존성 칼슘채널에 결합하여 신경전달물질 분비를 조절하여 나타난다[10-12]. 일반적으로 활동전위가 시냅스전 뉴런에 도달하여 막에 존재하는 전압의존성 칼슘채널을 열게 되고 이어서 칼슘이온이 유입되어 신경전달물질이 방출된다. 이때 관여하는 전압의존성 칼슘 채

*Correspondence to: Dong-Kuk, Ahn, Department of Oral Physiology, School of Dentistry, Kyungpook National University, 188-1 Sam Deok 2ga, Chung-gu, Daegu (700-412), Korea, Tel: 82-53-660-6840, Fax: 82-53-421-4077, Email: dkahn@knu.ac.kr

널의 소단위인 $\alpha 2\delta 1$ 은 통증전도에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 정상적인 상태에서 $\alpha 2\delta 1$ 은 낮은 활성도를 보이지만, 만성통증이 발생하면 활성이 증가되어 전압의 존성 칼슘채널이 쉽게 열리게 되고, 이러한 현상은 통증을 유발한다[13,14]. 가바펜틴을 투여하면 시냅스전 뉴런에 존재하는 전압의존성 칼슘채널의 $\alpha 2\delta 1$ 소단위에 결합하여 신경말단에서 칼슘이 유입되는 것을 억제하여 신경전달물질 분비를 감소시킴으로써 만성 통증을 억제한다[10-12].

중추신경계에 존재하는 신경아교세포는 신경세포의 유지, 영양공급, 식작용과 같은 기능을 담당하는 것으로 알려져 있으나, 최근에는 신경병증 통증의 발생과 유지에도 중요한 역할을 한다[15-17]는 사실이 밝혀졌다. 신경아교세포가 만성통증 발생과 밀접한 관계가 있다는 사실은 흰 쥐의 신경 절단이나 결찰 등과 같은 손상으로 만성 통증이 발생할 때 척수에서 미세아교세포(microglia)와 별아교세포(astrocyte)가 동시에 활성화되었다[16-18]는 보고로 알 수 있다. 또한 신경아교세포 억제제를 중추로 투여하여 신경아교세포가 활성화되는 것을 억제하면 흰 쥐의 아래 이틀신경 및 턱끝신경의 절단에 의해 나타나는 통각과민 현상과[18], 좌골신경 손상으로 인해 발생하는 이질통을 억제하였다[19]. 이와 같이 만성통증이 발생할 때 신경아교세포가 활성화될 뿐 아니라 신경아교세포에서 pro-inflammatory cytokine과 같은 신호매개물질이 방출되어 통증감작현상이 나타나거나[15,20,21], 시냅스후 뉴런 내로 칼슘을 유입시켜 통증전도를 증가시킨다[22]. 이러한 연구결과들은 신경병증 통증이 발생할 때 활성화된 신경아교세포를 억제하는 것이 신경병증 통증 치료에 중요하다는 것을 보여주고 있다. 최근 보고에 의하면 당뇨병으로 유발된 설치류의 신경병증 통증을 억제하기 위하여 가바펜틴을 투여하면 통증을 억제하였을 뿐만 아니라 척수에서 미세아교세포의 활성도 감소시켰다[5]. 그러나 약 안면 영역에서 발생하는 신경병증 통증을 치료하기 가바펜틴을 처치하였을 때 활성화된 신경아교세포에 어떠한 영향을 미치는지에 대한 연구는 거의 이루어지지 않고 있다.

최근 비정상적 위치에 식립된 임플란트가 설치류의 아래이틀신경을 손상시켜 삼차신경이 지배하는 안면영역에서 지속적인 기계적 이질통을 포함하는 신경병증 통증을 유발한다는 동물모델을 소개하였다[23,24]. 본 연구에서는 이러한 신경병증 통증 실험모델을 이용하여 중추로 투여한 가바펜틴의 진통작용이 신경아교세포 활성을 억제하여 나타나는지 알아보려고 실험하였다. 이러한 목적을 위하여 실험동물 흰 쥐에 임플란트를 식립하여 아래이틀신경을 손상시켜 기계적 이질통을 유발시켰으며, 미세아교세포의 표지자인 OX-42와 별아교세포의 표지자인 GFAP를 면역염색법을 이용하여 삼차신경 척

수감각핵 중 미측소핵에서 평가하였다. 신경병증 통증이 유발된 실험동물에서 가바펜틴을 소뇌연수조로 주입한 다음 통증 행위반응과 미측소핵에서 신경아교세포의 활성에 미치는 영향을 알아보았다.

재료 및 방법

실험동물과 수술

실험동물은 수컷 Sprague-Dawley계 흰쥐(220~240 g)를 사용하였고, 경북대학교 치의학전문대학원 동물실에서 일정한 온도와 12시간 주/야 빛의 순환주기를 갖는 환경에서 실험동물용 사료와 물을 자유롭게 공급하여 사육하였다. 본 연구는 경북대학교 치의학전문대학원 실험동물위원회의 승인을 얻었으며, 의식이 있는 동물의 실험에 관한 세계통증연구학회의 윤리적 규정을 준수하였다.

실험동물은 ketamine(0.2 g/kg)과 xylazine(0.02 g/kg) 혼합액으로 마취한 뒤, 수술은 선행연구에서 사용된 방법과 동일하게 실시하였다[23,24]. 아래턱 좌측 제2대구치를 발거하고, 아래이틀신경의 손상을 유발하기 위해 작게 만든 임플란트(직경 1 mm, 길이 4 mm, Megagen, Gyeongsan, Korea)를 식립하였다. 대조군은 아래턱 좌측 제2대구치를 발거하고 임플란트를 식립하지 않았다.

안면통증의 평가

행위반응 관찰을 위해 실험동물이 목을 빼내어 자유롭게 움직일 수 있도록 설계된 투명한 플라스틱 관찰용 통에 한 마리씩 넣어 안면영역에 공기자극(air-puffs)을 받을 수 있도록 하였다. 동물실험은 밝지 않으면서 조용한 곳에서 최소 30분 이상 안정화 시킨 다음 실시하였다. 안면영역에 가해지는 연속된 10회의 공기자극(4초 동안의 지속시간, 10초의 간격)에 반응하여 머리를 회피하거나 깨무는 등의 공격적인 행동을 통증 행위반사의 평가기준으로 삼았다. 공기자극 세기와 간격은 pneumatic pump module (BH2 system, Harvard Apparatus, Holliston, MA)로 조절하였다. 공기자극은 금속관(26 gauge, 10 cm)을 통해 피부로부터 1 cm 떨어진 곳에서 90°각도로 적용하였다. 자극의 역치는 총 시도한 횟수에서 50%이상의 반응을 보인 경우로 평가하였으며[25-27] 40 psi이상의 자극에서도 반응이 나타나지 않으면 자극을 중지하였다. 정상적인 동물은 40 psi이하의 압력에서는 어떠한 통증 행위반응도 보이지 않았다.

면역조직화학염색

실험동물(n=6 per group)은 수술 후 9일째에 0.9% 생리 식염수로 관류하고, 0.1 M phosphates buffer(PB, pH 7.4)에

용해시킨 4% paraformaldehyde로 고정하였다. 숨뇌뿔뿔을 적출하여 동일한 고정액으로 4°C에서 24시간 동안 후고정한 뒤 후고정한 조직을 다시 4°C에서 30% sucrose 용액에 두어 24시간 침투시켰다. 그 후 조직을 얼린 뒤, 미세조직절단기를 이용하여 30 μm 두께로 잘랐다. 이어서 비 특이성 항원에 대한 면역반응을 방지하기 위하여 phosphate buffered saline(PBS)용액에 0.2% Triton X-100, 5% goat serum을 첨가하여 실온에서 1시간동안 반응시켰다. 면역조직화학염색은 1차 항체인 OX-42(microglial marker, 1:100, Milipore, Temecula, CA) 혹은 GFAP(glial fibrillary acidic protein, astrocyte marker, 1:1000, Cell Signaling Technology, Danvers, MA)를 4°C에서 24시간 반응시킨 다음, 2차 항체인 Alexa 488-conjugated mouse IgG(1:200, Invitrogen, Carlsbad, CA)를 실온에서 1시간 반응시켰다. 발색된 절편은 형광현미경(BX 41 and U-RFL-T, Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰하고 사진 촬영하였다. 이미지 분석은 software인 I-solution(Innerview Co, Seongnam, Korea)을 이용하여 분석하였다.

가바펜틴의 효과

가바펜틴 투여가 비정상적 임플란트 식립에 의해 발생하는 통증에 미치는 영향을 평가하기 위하여 통증이 발현되는 초기와 후기로 나누어 실험하였다. 가바펜틴을 중추로 주입하기 3일 전 실험동물을 pentobarbital sodium (40 mg/kg, i.p.)으로 마취한 다음 뇌정위고정장치에 머리를 고정한 후 두경부 피부의 일부를 절개하고 후두골로부터 근육을 박리하여 고리뿔수막의 일부를 노출시켰다. 주사기 바늘(27 gauge)을 사용하여 막에 작은 구멍을 만들고 소뇌연수조로 약물을 주입하기 위한 폴리에틸렌관(PE10, Clay Adams, Parsippany, NJ)을 삽입한 뒤[28-30] 접착제로 고정시켰다. 폴리에틸렌 관은 두개골 부위로 빼내어 금속 나사못과 치과용 레진을 사용하여 머리에 고정하였다. 수술 후 72시간이 지난 후 회복된 동물은 임플란트 식립 후 1일부터 3일까지 그리고 수술 후 7일부터 9일까지 가바펜틴(0.3, 3 혹은 30 μg /10 μl)을 하루에 한번씩 3일 연속적으로 소뇌연수조로 각각 주입한 후, 30, 60, 120, 180, 360분 그리고 24 시간째에 통증에 미치는 영향을 평가하였다. 소뇌연수조로 투여한 가바펜틴이 아래이틀신경 손상으로 활성화된 신경아교세포를 억제하는지 관찰하기 위하여 수술 후 7일째에 가바펜틴을 투여(30 μg /10 μl)하기 시작하여 3일간 연속으로 투여한 다음 수술 후 9일째 실험동물의 미측소핵에서의 OX-42와 GFAP의 발현 정도를 비교하였다. 가바펜틴은 Sigma Aldrich(St. Louis, MO)사로부터 구입하여 생리식염수에 용해시켰다. 대조군은 가바펜틴의 용매인 생리식염수를 주

입하여 평가하였다

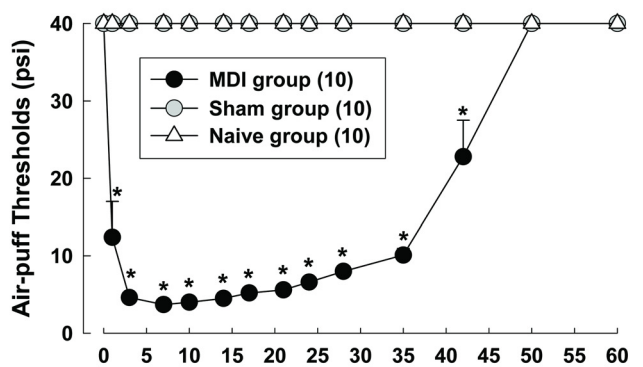
통계분석

실험결과 중 행위반응의 통계 분석은 다중 그룹에서 LSD post-hoc test에 의한 반복측정자료의 분산분석법을 이용하였다. 통계적인 비교를 위해 통계적 유의성의 표준값은 $p < 0.05$ 로 설정하였다. 모든 결과는 평균 \pm 표준오차(SEM)로 표시하였다.

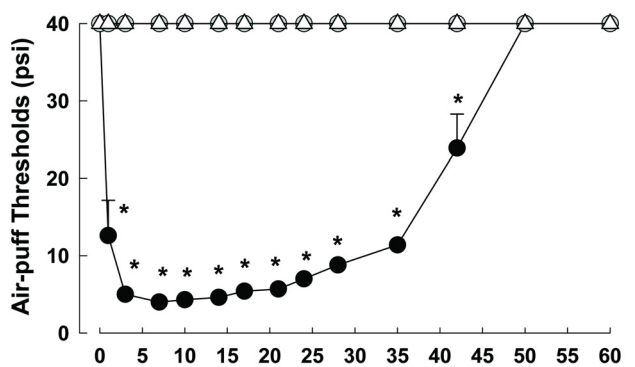
결과

비정상적 위치에 식립된 임플란트가 아래이틀신경을 손상시켜 발생하는 통증을 수술 후 시간에 따라 평가한

A: Ipsilateral



B: Contralateral



Time (Postoperative Days)

Fig. 1. Time-course analysis of the changes in air-puff thresholds following incorrectly placed dental implants in rats. Treatment with mal-positioned dental implants produced significant mechanical allodynia in both ipsilateral (A) and contralateral sides (B). The cut-off pressure was 40 psi, and naïve animals did not respond to pressures below this. There were 10 animals in each group. Significant differences between the mal-positioned dental implant group and the sham-treated group were observed. * $p < 0.05$, compared with the sham group.

것을 Fig. 1에 나타내었다. 아무런 처치도 하지 않은 그룹(naïve)에서는 40 psi 압력 세기로 자극을 가하여도 통증행위반응을 나타내지 않았다. 치아만 발거하고 임플란트를 식립하지 않은 대조군의 경우에도 아무런 처치를 하지 않은 그룹의 반응과 비교해 보았을 때 유의한 차이를 발견할 수 없었다. 그러나 치아를 발거하고 임플란트를 식립한 실험동물은 공기자극을 가하였을 때 손상 받은 영역뿐 아니라 반대쪽에서도 공기자극으로 유도되는 통증반응이 유의하게 증가하는 것을 관찰할 수 있었다($p < 0.05$, Fig. 1). 이러한 통증반응은 수술 후 42일째까지 유의하게 지속되다가 수술 후 50일경에 수술 전과 유사하게 회복되는 것으로 나타났다.

아래이틀신경 손상 후 통증이 발생하는 초기인 1일 후와 후기인 7일로 나누어 가바펜틴을 수조내투여 방법으로 3일 연속으로 투여하여 나타나는 진통작용을 평가한 것을 Fig. 2와 3에 각각 나타내었다. 통증이 발생하는 초기인 수술 후 1일에 0.3 μg 의 가바펜틴을 투여하면 투여

C: POD3 (3rd treatment)

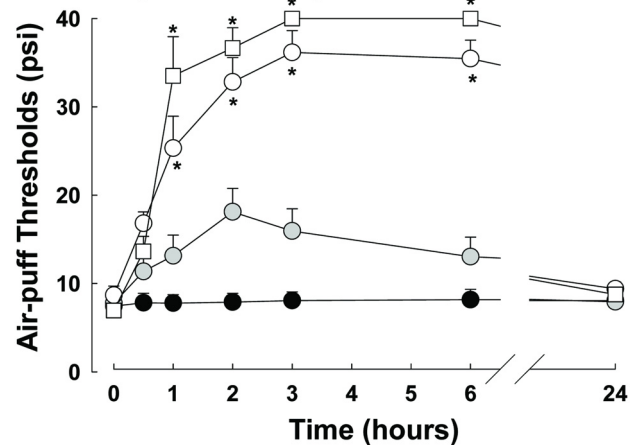
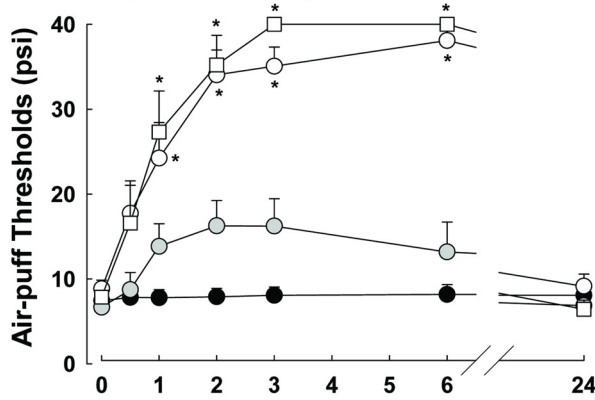


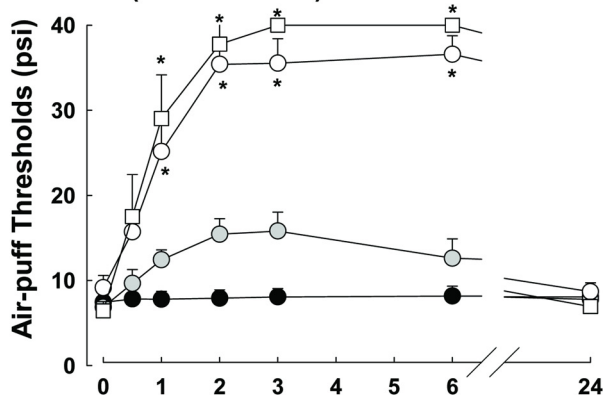
Fig. 2. The effects of daily treatment with gabapentin (i.c.) upon mechanical allodynia beginning on POD 1 for 3 days. Neither the vehicle nor 0.3 μg gabapentin affected air-puff thresholds. The intracisternal administration of gabapentin (3, 30 $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$) significantly reduced mechanical allodynia on POD 1. On POD 2 and 3, the administration of gabapentin produced anti-allodynic effects. Gabapentin-induced anti-allodynic effects were persisted for 6 hrs and were recovered within 24 hrs. There were 6 animals in each group. * $p < 0.05$, compared with the vehicle group.

● Vehicle (6) ○ 0.3 μg gabapentin (6)
 ○ 3 μg gabapentin (6) □ 30 μg gabapentin (6)

A: POD1 (1st treatment)

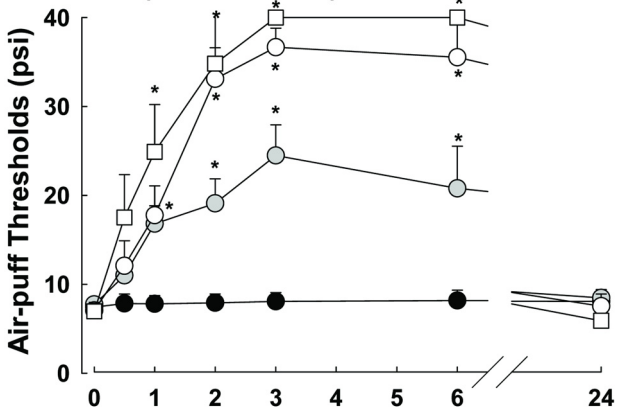


B: POD2 (2nd treatment)



● Vehicle (6) ○ 0.3 μg gabapentin (6)
 ○ 3 μg gabapentin (6) □ 30 μg gabapentin (6)

A: POD7 (1st treatment)



시간에서 부터 6시간까지 이질통을 억제하였지만 통계학적으로 유의하지는 않았다. 그러나 3 μg 과 30 μg 농도의 가바펜틴을 투여하면 투여 후 1시간에서 부터 6시간까지 이질통을 유의하게 억제하였고($p < 0.05$, Fig. 2A), 24 시간이 지나서 진통효과는 사라졌다. 대조군으로 생리식염수를 처치한 동물에서는 통증반응에 아무런 영향을 미치지 않았다. 술 후 2일과 3일에 가바펜틴을 투여하여 나

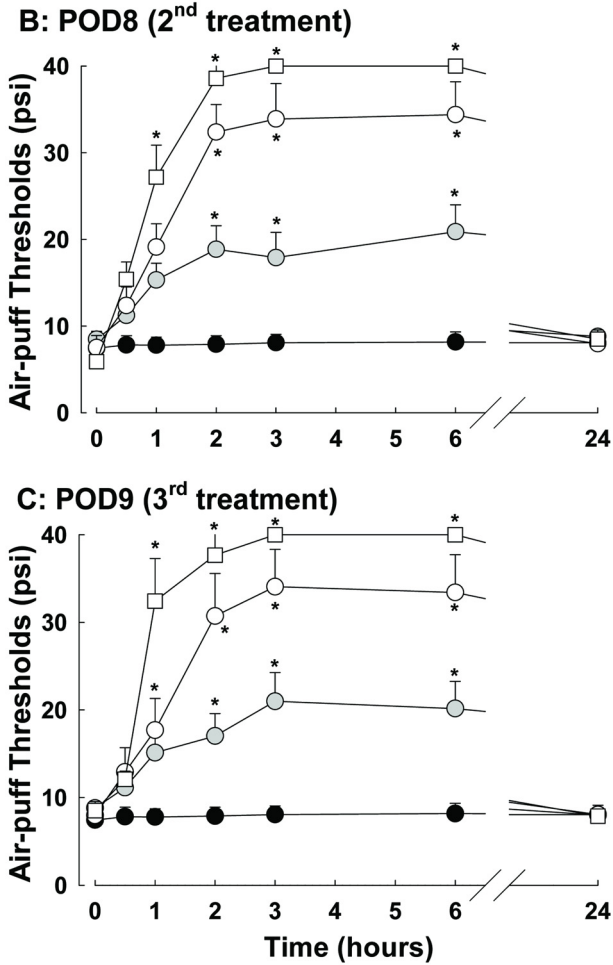


Fig. 3. The effects of daily treatment with gabapentin (i.c.) upon mechanical allodynia. The vehicle treatment did not affect air-puff thresholds. Once-daily injection of gabapentin (0.3, 3, 30 μg/10 μl) significantly reduced mechanical allodynia. The intracisternal administration of gabapentin significantly reduced mechanical allodynia on POD 7. On POD 8 and 9, the administration of gabapentin produced anti-allodynic effects, which persisted for 6 hrs and were recovered within 24 hrs. There were 6 animals in each group. *p<0.05, compared with the vehicle group.

타나는 진통작용은 1일째 투여한 진통효과와 동일하게 나타났다(p<0.05, Fig. 2B, C). 통증이 발생하는 후기인 수술 후 7일에 0.3, 3 그리고 30 μg의 농도로 가바펜틴을 투여하면 1에서 6시간까지 공기자극에 대한 역치값을 유의하게 증가시켜 진통작용이 나타났다(p<0.05, Fig. 3A). 가바펜틴의 진통작용은 술 후 8과 9일째 각각 투여한 실험에서도 7일에 투여한 진통효과와 유사하게 나타났다 (p<0.05, Fig. 3B, C). 대조군으로 생리식염수를 처치한 군에서는 통증반응에 어떠한 영향도 관찰할 수 없었다. 가바펜틴을 연속 투여하여 3일째 나타나는 진통작용은 단 회 투여하여 나타나는 진통작용과 유사하게 나타났으며 통

증이 발생하는 초기와 후기에 각각 투여하여 나타나는 진통작용을 비교하여 보았을 때에도 유의한 차이점을 관찰할 수 없었다.

아래이틀신경 손상은 9일째 미측소핵에서 미세아교세포와 별아교세포의 활성을 관찰할 수 있었으며, 이를 관찰한 결과를 Fig. 4와 5에 각각 나타내었다. 신경손상 후 9일째 미측소핵에서 정상적인 실험군과 비교하여 볼 때 미세아교세포의 표지자인 OX-42와 별아교세포의 표지자인 GFAP가 유의하게 증가 된 것을 관찰하였다. 아래이틀신경이 손상된 실험동물에서 수조내투여 방법으로 가바펜틴(30 μg)을 3일 연속 투여한 다음 신경손상으로 증가된 미세아교세포와 별아교세포의 활성에 미치는 영향을 관찰 하였다. 가바펜틴을 3일 연속 처치하여 진통작용이 유발되는 농도에서도 신경손상으로 증가된 미세아교세포와 별아교세포의 활성에는 유의한 영향을 미치지 못하였다.

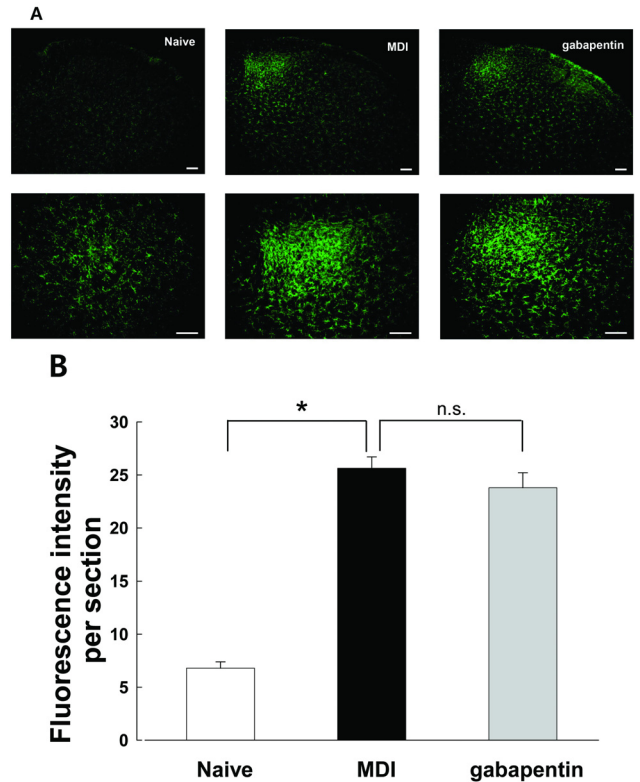


Fig. 4. Effects of gabapentin on expression of OX-42 immunoreactivity in the medullary dorsal horn. Expression of OX-42 immunoreactivity was up-regulated 9 days after inferior alveolar nerve injury, as compared with the naïve rats. Intracisternal injection of gabapentin (30 μg/10 μl for 3 days) did not affect up-regulated microglial expression, as compared to the mal-positioned implanted (MDI) animals. Scale bar, 50 μm. Fluorescence intensity of OX-42 in the medullary dorsal horn. Intracisternal injection of gabapentin had no significant (n.s.) effect compared with the MDI group. *p<0.05, compared with the naïve group.

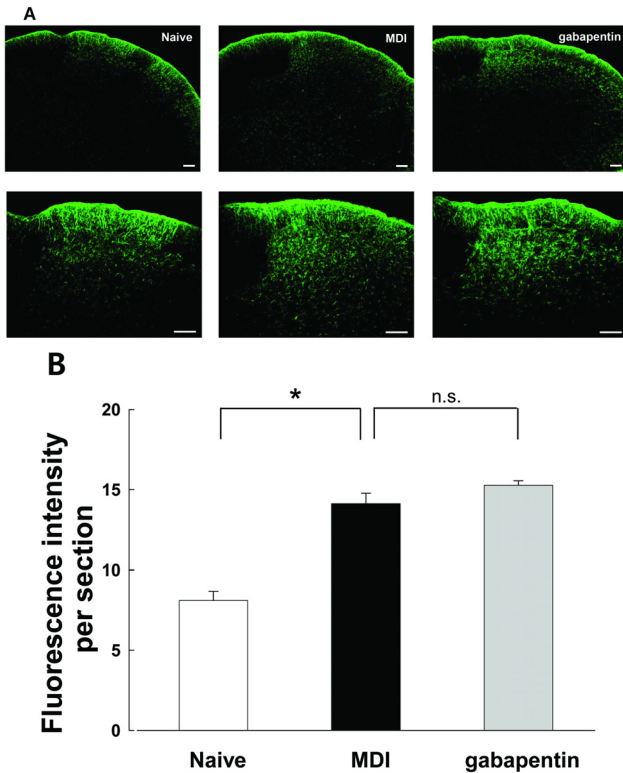


Fig. 5. Effects of gabapentin on expression of GFAP immunoreactivity in the medullary dorsal horn. Expression of GFAP immunoreactivity was up-regulated 9 days after inferior alveolar nerve injury, as compared with the naïve rats. Intracisternal injection of gabapentin (30 $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ for 3 days) did not affect up-regulated astrocyte expression, as compared to the mal-positioned implanted (MDI) animals. Scale bar, 50 μm . Fluorescence intensity of GFAP in the medullary dorsal horn. Intracisternal injection of gabapentin had no significant (n.s.) effect compared with the MDI group. * $p < 0.05$, compared with the naïve group.

고찰

본 연구에서 임플란트 식립에 의해 아래이틀신경이 손상되면 안면영역에서 지속적인 신경병증 통증이 발생하고 삼차신경핵의 미측소핵에서 미세아교세포와 별아교세포가 활성화된다는 것을 보여주었다. 연속적인 가바펜틴 투여는 단기 투여로 나타나는 진통작용과 유의한 차이를 나타내지 못하였다. 가바펜틴을 투여하면 아래이틀신경이 손상되어 나타나는 이질통은 유의하게 억제하였지만 신경손상으로 증가된 미세아교세포와 별아교세포의 활성을 억제하지 못하였다. 이러한 실험 결과는 가바펜틴은 신경병증 통증을 조절할 수 있으나 진통작용은 중추신경계에 존재하는 신경아교세포를 조절하여 나타나지 않는다는 것을 말해준다. 나아가 가바펜틴의 단기투여는 지속적인 진통작용 효과를 유발하지 못한다는 것을 말해준다.

통증 행위 반응

최근 치과에서 임플란트를 이용한 수복치료가 증가하고 있다. 이러한 치료형태의 변화는 상대적으로 임플란트 시술에 의해 신경손상이 발생할 가능성이 크다[31-33]. 최근 보고에 따르면 치과에서 임플란트를 식립한 환자 8.5%에서 신경손상을 경험하였다고 한다[33]. 이러한 신경손상이 유발될 때 가장 흔한 증상은 불유쾌한 감각이상을 동반한 이질통과 통각과민 현상이며[34,35], 이러한 신경병증 통증 치료는 근원적인 치료는 불가능하며, 약물치료를 통해 증상을 완화한다. 이와 같이 임플란트에 의해 발생하는 신경병증 통증치료를 한계를 보이는 것은 병인기전을 연구하는 동물 실험모델이 없는 것이 주요한 원인이다. 최근 Han 등은[23] 비정상적인 위치로 식립한 임플란트가 아래이틀신경을 손상시켜 안면영역에서 기계적 이질통, 냉자극에 대한 민감도 증가와 기계적 통각과민의 현상을 보여주었다[23]. 이러한 결과는 사람에게 비정상적 위치에 임플란트가 식립되어 신경손상을 유발하게 되고 이러한 결과로 발생하는 신경병증 통증 증상들과 유사하다[32,33]. 따라서 본 연구에서 사용한 신경병증 동물모델은 임상에서 발생하는 통증을 연구하기 위한 모델로 사용하기에 적합하다는 것을 알 수 있다.

신경병증 통증발생에 신경아교세포 역할

말초신경손상은 신경병증 통증을 유발하고 척수에서 미세아교세포를 활성화 시킨다[36,37]. 본 실험에서 아래이틀신경 손상은 심각한 신경병증 통증을 유발하였고, 삼차신경 척수감각핵 중 미측소핵에서 미세아교세포와 별아교세포를 활성화시켰다. 이와 같이 다양한 선행 보고들이 신경병증 통증발생에 미세아교세포와 별아교세포가 관여하고 있다는 것을 증명하고 있다. 신경손상에 의해 활성화되는 미세아교세포는 신경병증 통증 발생에 중요하게 작용하는 반면, 활성화된 별아교세포는 발생한 신경병증 통증을 지속시키는데 중요한 역할을 한다[38,39]고 한다. 그리고 신경병증 통증이나 염증성 통증에 의해 활성화된 미세아교세포는 proinflammatory cytokines를 분비하여 별아교세포와 함께 척수에서 신경병증 통증 발생기전 중 하나인 중추민감화(central sensitization) 작용을 유도하게 되어[40-42] 이질통과 통각과민으로 이어지게 된다[43,44]. 이러한 선행 실험 결과와 본 연구 결과를 종합해 볼 때 안면영역에서 발생하는 신경병증 통증에 미측소핵에서 활성화된 미세아교세포와 별아교세포가 중요하게 작용한다는 것을 알 수 있다.

가바펜틴의 진통작용

가바펜틴은 시냅스전 뉴런에 존재하는 전압의존성 칼

슌채널의 소단위인 $\alpha 2\delta 1$ 에 결합하여 신경말단에서 칼슘 유입을 억제하여 신경전달물질 분비를 감소시킴으로서 시냅스후 뉴런으로 이어지는 흥분성 전도를 차단하여 진통작용을 나타낸다[10-12]. 이러한 가바펜틴의 진통작용 기전은 선행연구에서 좌골신경 압박으로 유발된 신경병증 통증이 중추로 투여한 가바펜틴에 의해 억제되었는데 이러한 진통작용은 가바펜틴이 중추신경계에서 전압의존성 칼슘채널의 $\alpha 2\delta 1$ 소단위와 결합하여 흥분성신경전달물질인 glutamate 방출을 억제하여 나타냈다[45]는 사실로 알 수 있다. 나아가 척수신경 손상으로 유발된 기계적 이질통은 척수에서 전압의존성 칼슘채널의 $\alpha 2\delta 1$ 소단위가 증가하였으며 척수강으로 투여한 가바펜틴은 증가된 $\alpha 2\delta 1$ 소단위 활성화를 억제하여 진통작용을 나타낸다[46]는 실험 보고는 이러한 결과를 증명하고 있다. 본 연구 결과에서도 가바펜틴의 투여는 신경병증 통증을 유의하게 억제하였다. 그러나 가바펜틴의 연속적인 투여로 나타나는 진통작용은 단회투여로 나타나는 진통작용과 비교하여 볼 때 진통작용의 지속시간이 비슷하였으며 연속투여 시 나타나는 가바펜틴의 진통효과를 살펴보면 가바펜틴을 매일 투여 후 나타나는 진통작용은 투여 후 24시간 이내에 완전히 회복되었다. 또한 신경손상 초기나 후기에 가바펜틴을 투여하여 나타나는 진통작용을 비교하였을 때에도 비슷하게 나타났다. 이러한 가바펜틴의 진통작용은 신경손상 후 시간에 따라 통증 발생기전이 변화하는 것과는 무관하게 항상 진통작용을 나타낼 수 있다는 것을 말해 준다. 그러나 진통작용은 항상 약물 투여 후 지속되지 않기 때문에 통증증상을 완화해 주는 것으로 보여진다.

가바펜틴과 신경아교세포

최근 보고들에 의하면 신경아교세포를 억제시킬 수 있는 약물은 신경병증 통증을 억제시킬 수 있다[47,48]. 이러한 것은 신경아교세포를 억제하는 약물인 fluoroacetate를 약 7일 동안 지속적으로 처치하여 눈확아래신경을 절단하여 안면부에 발생하는 기계적 이질통을 억제하였고 이러한 진통작용은 28일 동안 지속된다[49]는 결과로 알 수 있다. 이러한 실험 결과는 신경아교세포를 억제할 수 있는 약물을 투여하면 신경아교세포를 조절하여 지속적으로 통증을 억제할 수 있다는 것을 의미한다. 따라서 가바펜틴이 신경아교세포를 조절할 수 있다면 만성적인 신경병증 통증의 진통제로서 보다 효과적으로 사용할 수 있을 것으로 판단된다.

최근 연구에서 streptozotocin으로 유발된 당뇨병성 신경병증 통증을 경구로 투여한 가바펜틴이 유의하게 억제하였을 뿐만 아니라 척수에서 신경손상으로 증가된 미세아교세포의 활성을 억제시켰다[5]. 이러한 실험 결과는 strep-

tozotocin투여로 유발된 당뇨병성 신경병증 통증에서 가바펜틴의 진통작용은 미세아교세포를 조절하여 나타난다고 할 수 있다. 그러나 본 실험에서 가바펜틴을 투여하면 아라이틀신경의 손상으로 나타나는 통증은 억제 하였지만 미측소핵에서 증가된 미세아교세포와 별아교세포의 활성을 억제하지 못하였다. 이러한 결과는 3일 연속적으로 가바펜틴을 투여하거나 단회 투여하였을 때에 같이 나타났으며 신경손상 초기나 후기에 각각 투여할 때 모두 동일한 진통효과가 나타나며, 단회 혹은 연속 투여한 두 군에서 투여 후 24시간이 지나면 진통작용이 완전히 사라지는 것 등은 가바펜틴이 신경아교세포 활성을 조절하여 진통작용을 나타내지 못하기 때문이라고 판단된다.

비정상적 위치에 식립된 임플란트는 아라이틀신경을 손상시켜 신경병증 통증을 유발하였고, 이러한 통증은 중추로 투여한 가바펜틴에 의해 유의하게 억제되었다. 그러나 가바펜틴은 신경손상으로 증가된 신경아교세포의 활성을 억제하지 못했다. 이러한 실험 결과는 아라이틀신경의 손상으로 유발된 신경병증 통증은 가바펜틴을 투여하면 일시적으로 진통작용을 나타낼 수 있지만, 아라이틀신경의 손상으로 유발된 신경아교세포의 활성화를 억제하지 못하기 때문에 지속적인 진통작용을 유지하지 못한다는 결과를 보여주고 있다. 따라서 중추신경계의 신경아교세포를 조절하여 신경병증 통증을 치료하는 보다 효과적인 치료제를 찾는 연구가 더 진행되어야 할 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원(No. 2010-0012329)과 2012년도 경북대학교 학술연구비와 특성화사업비 지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

1. Taylor CP, Gee NS, Su TZ, Kocsis JD, Welty DF, Brown JP, Dooley DJ, Boden P, Singh L. A summary of mechanistic hypotheses of gabapentin pharmacology. *Epilepsy Res.* 1998;29:233-49.
2. McLean MJ, Gidal BE. Gabapentin dosing in the treatment of epilepsy. *Clin Ther.* 2003;25:1382-406.
3. Levendoglu F, Ogun CO, Ozerbil O, Ogun TC, Ugurlu H. Gabapentin is a first line drug for the treatment of neuropathic pain in spinal cord injury. *Spine.* 2004; 29:743-51.

4. Singh D, Kennedy DH. The use of gabapentin for the treatment of postherpetic neuralgia. *Clin Ther.* 2003;25:852-89.
5. Wodarski R, Clark AK, Grist J, Marchand F, Malcangio M. Gabapentin reverses microglial activation in the spinal cord of streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur J Pain.* 2009;13:807-11.
6. Tzellos TG, Toulis KA, Goulis DG, Papazisis G, Zampeli VA, Vakfari A, Kouvelas D. Gabapentin and pregabalin in the treatment of fibromyalgia: a systematic review and a meta-analysis. *J Clin Pharm Ther.* 2010;35:639-56.
7. Hunter JC, Gogas KR, Hedley LR, Jacobson LO, Kasotakis L, Thompson J, Fontana DJ. The effect of novel anti-epileptic drugs in rat experimental models of acute and chronic pain. *Eur J Pharmacol.* 1997;324:153-60.
8. Hwang JH, Yaksh TL. Effect of subarachnoid gabapentin on tactile-evoked allodynia in a surgically induced neuropathic pain model in the rat. *Reg Anesth.* 1997;22:249-56.
9. Cheng JK, Pan HL, Eisenach JC. Antiallodynic effect of intrathecal gabapentin and its interaction with clonidine in a rat model of postoperative pain. *Anesthesiology.* 2000;92:1126-31.
10. Gee NS, Brown JP, Dissanayake VU, Offord J, Thurlow R, Woodruff GN. The novel anticonvulsant drug, gabapentin (Neurontin), binds to the alpha2delta subunit of a calcium channel. *J Biol Chem.* 1996;271:5768-76.
11. Fink K, Dooley DJ, Meder WP, Suman-Chauhan N, Duffy S, Clusmann H, Gothert M. Inhibition of neuronal Ca(2+) influx by gabapentin and pregabalin in the human neocortex. *Neuropharmacology.* 2002;42:229-36.
12. Hendrich J, Van Minh AT, Heblich F, Nieto-Rostro M, Watschinger K, Striessnig J, Wratten J, Davies A, Dolphin AC. Pharmacological disruption of calcium channel trafficking by the alpha2delta ligand gabapentin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105:3628-33.
13. Li CY, Song YH, Higuera ES, Luo ZD. Spinal dorsal horn calcium channel alpha2delta-1 subunit upregulation contributes to peripheral nerve injury-induced tactile allodynia. *J Neurosci.* 2004;24:8494-9.
14. Melrose HL, Kinloch RA, Cox PJ, Field MJ, Collins D, Williams D. [3H] pregabalin binding is increased in ipsilateral dorsal horn following chronic constriction injury. *Neurosci Lett.* 2007;417:187-92.
15. Watkins LR, Milligan ED, Maier SF. Glial activation: a driving force for pathological pain. *Trends Neurosci.* 2001;24:450-5.
16. Jin SX, Zhuang ZY, Woolf CJ, Ji RR. P38 mitogen-activated protein kinase is activated after a spinal nerve ligation in spinal cord microglia and dorsal root ganglion neurons and contributes to the generation of neuropathic pain. *J Neurosci.* 2003;23:4017-22.
17. Milligan ED, Watkins LR. Pathological and protective roles of glia in chronic pain. *Nat Rev Neurosci.* 2009;10:23-36.
18. Piao ZG, Cho IH, Park CK, Hong JP, Choi SY, Lee SJ, Lee S, Park K, Kim JS, Oh SB. Activation of glia and microglial p38 MAPK in medullary dorsal horn contributes to tactile hypersensitivity following trigeminal sensory nerve injury. *Pain.* 2006;121:219-31.
19. Ledeboer A, Sloane EM, Milligan ED, Frank MG, Mahony JH, Maier SF, Watkins LR. Minocycline attenuates mechanical allodynia and proinflammatory cytokine expression in rat models of pain facilitation. *Pain.* 2005;115:71-83.
20. DeLeo JA, Yeziarski RP. The role of neuroinflammation and neuroimmune activation in persistent pain. *Pain.* 2001;90:1-6.
21. Hanisch UK. Microglia as a source and target of cytokines. *Glia.* 2002;40:140-155.
22. Ji RR, Gereau RW 4th, Malcangio M, Strichartz GR. MAP kinase and pain. *Brain Res Rev.* 2009;60:135-48.
23. Han SR, Yeo SP, Lee MK, Bae YC, Ahn DK. Early dexamethasone relieves trigeminal neuropathic pain. *J Dent Res.* 2010;89:915-20.
24. Lee MK, Han SR, Park MK, Kim MJ, Bae YC, Kim SK, Park JS, Ahn DK. Behavioral evidence for the differential regulation of p-p38 MAPK and p-NF-kappa B in rats with trigeminal neuropathic pain. *Mol Pain.* 2011;7:57.
25. Yang CS, Jung CY, Ju JS, Lee MK, Ahn DK. Intracisternal administration of mitogen-activated protein kinase inhibitors reduced IL-1beta-induced mirror-image mechanical allodynia in the orofacial area of rats. *Neurosci Lett.* 2005;387:32-7.
26. Jung CY, Choi HS, Ju JS, Park HS, Kwon TG, Bae YC, Ahn DK. Central metabotropic glutamate receptors differentially participate in IL-1β-induced mechanical allodynia in the orofacial area of conscious rats. *J Pain.* 2006;7:747-56.
27. Lee MK, Yoon JH, Park MK, Yang GY, Won KA, Park YY, Ahn DK. The intracisternal administration of MEK inhibitor attenuates mechanical and cold allodynia in a rat model of compression of the trigeminal ganglion. *Int J Oral Biol.* 2010;35:75-81.
28. Ahn DK, Choi HS, Yeo SP, Woo YW, Lee MK, Yang GY, Jeon HJ, Park JS, Mokha SS. Blockade of central cyclooxygenase (COX) pathways enhances the cannabinoid-induced antinociceptive effects of inflammatory temporomandibular joint (TMJ) nociception. *Pain.* 2007;132:23-32.
29. Won KA, Park SH, Kim BK, Baek KS, Yoon DH, Ahn DK. Intracisternal administration of voltage dependent calcium channel blockers attenuates orofacial inflammatory nociceptive behavior in rats. *Int J Oral Biol.* 2011;36:43-50.
30. Yaksh TL, Rudy TA. Chronic catheterization of spinal subarachnoid space. *Physiol Behav.* 1976;17:1031-6.
31. van Steenberghe D, Lekholm U, Bolender C, Folmer T, Henry P, Herrmann I, Higuchi K, Laney W, Linden U, Astrand P. Applicability of osseointegrated oral implants in the rehabilitation of partial edentulism: a prospective multicenter study on 558 fixtures. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1990;5:272-81.
32. Ellies LG. Altered sensation following mandibular implant surgery: a retrospective study. *J Prosthet Dent.* 1992;68:664-71.

33. Bartling R, Freeman K, Kraut RA. The incidence of altered sensation of the mental nerve after mandibular implant placement. *J Oral Maxillofac Surg.* 1999;57:1408-12.
34. Hegedus F, Diecidue RJ. Trigeminal nerve injuries after mandibular implant placement--practical knowledge for clinicians. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2006;21:111-6.
35. Khawaja N, Renton T. Case studies on implant removal influencing the resolution of inferior alveolar nerve injury. *Br Dent J.* 2009;206:365-70.
36. Watkins LR, Maier SF. Glia: a novel drug discovery target for clinical pain. *Nat Rev Drug Discov.* 2003;2:973-85.
37. Scholz J, Woolf CJ. The neuropathic pain triad: neurons, immune cells and glia. *Nat Neurosci.* 2007;10:1361-8.
38. Raghavendra V, Tanga F, DeLeo JA. Inhibition of microglial activation attenuates the development but not existing hypersensitivity in a rat model of neuropathy. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003;306:624-30.
39. Colburn RW, Rickman AJ, DeLeo JA. The effect of site and type of nerve injury on spinal glial activation and neuropathic pain behavior. *Exp Neurol.* 1999;157:289-304.
40. Beggs S, Salter MW. Stereological and somatotopic analysis of the spinal microglial response to peripheral nerve injury. *Brain Behav Immun.* 2007;21:624-33.
41. Chang YW, Tan A, Saab C, Waxman S. Unilateral focal burn injury is followed by long-lasting bilateral allodynia and neuronal hyperexcitability in spinal cord dorsal horn. *J Pain.* 2010;11:119-30.
42. Tsuda M, Inoue K, Salter MW. Neuropathic pain and spinal microglia: a big problem from molecules in "small" glia. *Trends Neurosci.* 2005;28:101-7.
43. Watkins LR, Milligan ED, Maier SF. Glial proinflammatory cytokines mediate exaggerated pain states: implications for clinical pain. *Adv Exp Med Biol.* 2003;521:1-21.
44. Ren K, Dubner R. Neuron-glia crosstalk gets serious: role in pain hypersensitivity. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2008;21:570-9.
45. Coderre TJ, Kumar N, Lefebvre CD, Yu JS. Evidence that gabapentin reduces neuropathic pain by inhibiting the spinal release of glutamate. *J Neurochem.* 2005;94:1131-9.
46. Boroujerdi A, Zeng J, Sharp K, Kim D, Steward O, Luo ZD. Calcium channel alpha-2-delta-1 protein upregulation in dorsal spinal cord mediates spinal cord injury-induced neuropathic pain states. *Pain.* 2011;152:649-55.
47. Sweitzer SM, Schubert P, DeLeo JA. Propentofylline, a glial modulating agent, exhibits antiallodynic properties in a rat model of neuropathic pain. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001;297:1210-7.
48. Mika J. Modulation of microglia can attenuate neuropathic pain symptoms and enhance morphine effectiveness. *Pharmacol Rep.* 2008;521:1-21.
49. Okada-Ogawa A, Suzuki I, Sessle BJ, Chiang CY, Salter MW, Dostrovsky JO, Tsuboi Y, Kondo M, Kitagawa J, Kobayashi A, Noma N, Imamura Y, Iwata K. Astroglia in medullary dorsal horn (trigeminal spinal subnucleus caudalis) are involved in trigeminal neuropathic pain mechanisms. *J Neurosci.* 2009;29:11161-71.