

백서의 내장 신경통 연구를 위한 Visceral Pain Model(VPM)의 소개

가톨릭대학 의과대학 마취과학교실

이 철 우

=Abstract=

Introduction of Visceral Pain Model to Test of Visceral Nociception in the Rats

Chul Woo Lee, M.D.

Department of Anesthesiology, Catholic University Medical College

Anlgescic agents against visceral pain typically rely on a noxious chemical irritation of the peritoneum, e. g., acetic acid and phenylquinone writhing test. While useful, this type of assay depends upon an acute inflammation and the release of local alogens. Further, ethical and scientific constraints prevent repeated assessments in a single animal, thereby compounding the difficulty of assessing tolerance development to analgesic agents. To overcome these constraints, Colburn et al. developed a model for mechanical visceral pain model(VPM) based on a repeatable and reversible duodenal distention in the rat. A chronic indwelling intraduodenal balloon catheter is well tolerated and upon inflation produces a writhing response graded in proportion to distention.

This response is inhibited by morphine in a dose dependent manner. We found that a model for visceral pain was thought to be a great value.

Key Words: Visceral pain model, Visceral nocicepton.

서 론

복부의 내장 신경통에 대한 기전은 아직 명확히 규명되어 있지 않고, 강력한 마약제등을 포함한 진통제들의 효과는 아직 복부내장 신경통을 효과적으로 제어하지 못하고 있다¹⁾. 이런 경우 신경파괴술이 시행되기도 한다²⁾. 따라서, 복부 내장신경통의 기전과 그에 대한 진통제의 약리작용과 효과에 대한 연구가 더욱 필요하다³⁾.

임상적으로 내장 신경통은 주로 내장기의 팽창에 기인하고, 드물게는 부분적 또는 완전한 내장의 폐쇄에

의한다고 한다⁴⁾.

그러나 현재 널리 사용되고 있는 화학적 자극실험(chemical irritant test)은 이러한 기계적 유해자극을 반영하지 못하는 것으로 보인다⁷⁾. 또한, Collier 등은 복강자극 모델(peritoneal irritant model)은 반복측정이 어렵고, 만성통증에 대한 평가를 할 수 없다고 하였다⁷⁾.

저자들은 Colburn과 Coombs등이 개발한 Visceral Pain Model(VPM)즉 쥐의 십이지장에 반복적 기계적 자극을 하여, 내장 신경통을 평가할 수 있는 model을 사용하여 연구한 바, 내장신경통연구에 기본적인 요구를 충분히 만족시킬 수 있고 또한 기존

의 화학적 자극에 대한 실험에서, 얻을 수 없는 자료를 분석할 수 있는 장점이 있어, 문헌고찰과 함께 보고하고자 한다.

재료 및 방법

무게 200~250 gram의 수컷 Sprague Dawley 쥐를 할로탄, N₂O, O₂를 사용하여, 반폐쇄 순환식으로 전신 마취하였다.

마취된 쥐를 양와위로 눕히고 상복부를 면도하고 iodine으로 소독한후 좌측 늑골 모서리 바로 아래 복벽을 횡적으로 2.5 cm 정도 절개하여 위를 확인하고 위유문에서 약 10 mm 떨어진 위 큰 만곡쪽에 위루설치술을 위한 purse string suture를 4-0 silk로 준비하고, 약 2 mm 정도의 위루설치를 한후, balloon 이 준비된 도관을 위유문부를 통하여 십이지장 부위에 도달하도록(위유문에서 약 15~20 mm 지점) 밀어 넣은후 준비된 purse string을 도관주위에 위루설치술

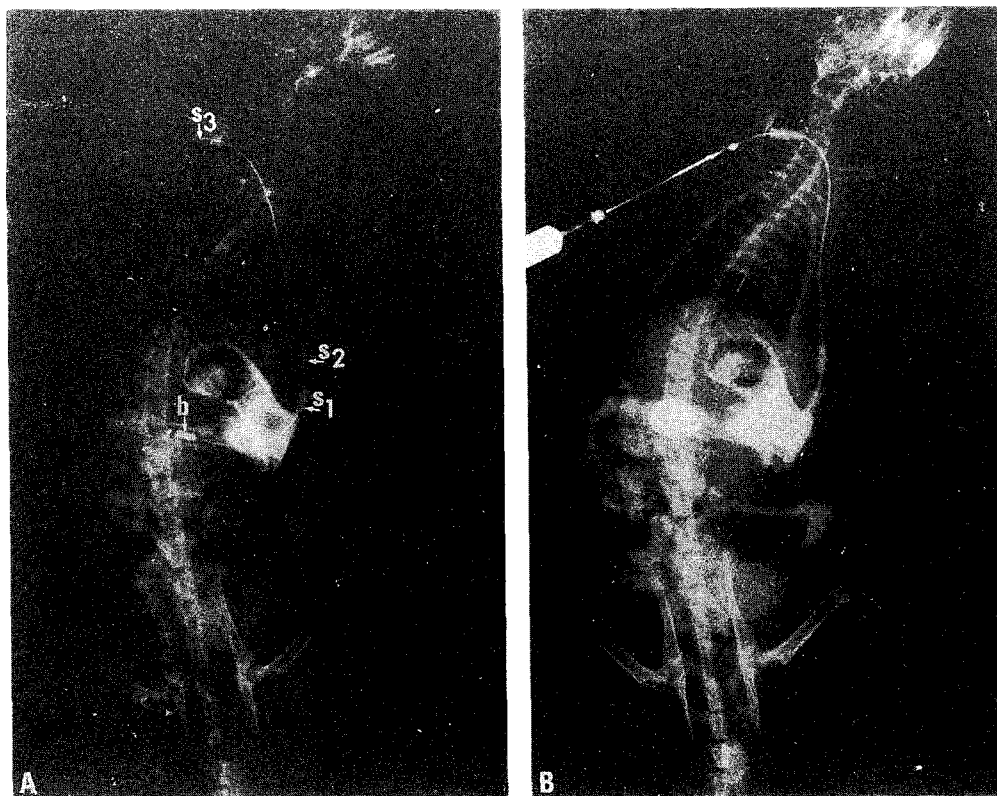


Fig. 1. (A) Total body radiograph of a 250 gram rat, 34 minutes following instillation of 1 ml of Renografin[®] contrast per a tempor esophageal cannulae. The duodenal distention catheter balloon system had been implanted 2 days earlier. Gastric pouch and upper small bowel are visualized by contrast material. An arrow points to the undistended balloon catheter tip(b. 17 mm from the pylorus) in the proximal duodenum. The duodenum appears undilated since the contrast passes easily. Arrows also identify silicone rubber sleeves at the gastrostomy exit site(S₁), within the subcutaneous space just lateral to the rectus muscle(S₂) and at the subcutaneous-skin exit site(S₃), (B) The same as in (A) 60 minutes following Renografin[®] instillation into the esophagus. The contrast material has now passed throughout the intestinal tract. At this point, the duodenal balloon was inflated with 0.75 ml of contrast dye. The balloon is seen to slightly distend the duodenum distal to the pylorus of the stomach. No leakage of contrast from the duodenum was observed to indicate perforation from overdistention.

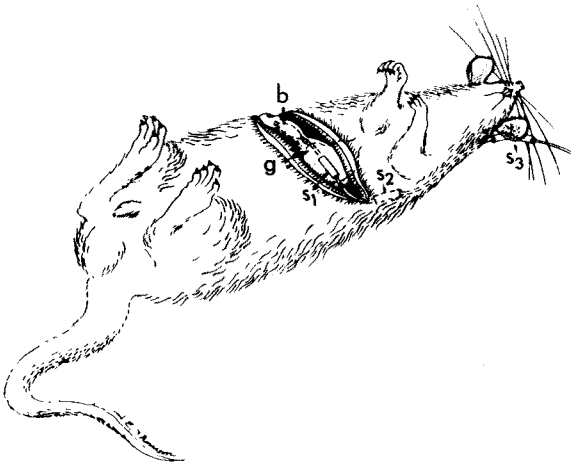


Fig. 2. Schematic of surgical implantation of the catheter, gastrostomy, and tunnelling to the infra-occipital exit site. Shown are the duodenal position of the catheter balloon tip(b), gastrostomy site in the gastric fundus(g). Silicone rubber sleeves are shown, prior to approximation, between gastrostomy(S_1) and rectus muscle, within the subcutaneous space just lateral to the rectus muscle(S_2), and at the exit site(S_3) with PE-50 protruding at the base of the occiput.

을 폐쇄시키는데 맞게 묶어준다.

10 mm길이의 silicone rubber sleeve(Fig 1-A와 Fig 2의 S_1)를 purse string으로 닫히는데까지 튀어나온 위루설치 도관을 지나 통과시키고, purse string이 딸린쪽은 silicone sleeve에 고정하여 함께 매듭짓는다.

다음 단계로 도관의 먼 부분은 배로부터 피하를 지나 후두기저부의 출구로 나오게 하였다. 이때 18G Tuohy 경막의 주사바늘을 이용하여, 피하 복부근육을 통하여 밀어 넣었는데, 그 주행 방향은 Fig. 2에서 보는 바와 같다.

복벽을 통한 도관에는 이차적 silastic sleeve(Fig. 1과 Fig. 2의 S_2)가 복부지근을 사이에 두고 끼워졌으며, 다음 단계로 도관의 배에서 후두기저부쪽으로 피하를 통과시켜 밖에 고정하였다.

1 mm 중앙선 절개를 후두기저부에 넣고 Tuohy 경막의 주사바늘을 복부근육에 있는 도관까지 밀어 넣었다.

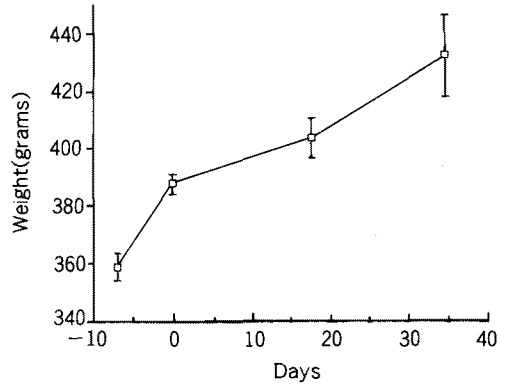


Fig. 3. Serial weight analysis. The weight was monitored before and after duodenal balloon implantation in twenty rats. The slope of weight gain is steep initially, with a slight plateau immediately following surgery. Weight gain then resumes with vigor. These patterns imply that, beyond the early surgical recovery period, the indwelling balloon catheter itself is not a deterrent to growth.

도관을 바늘을 통해 밀어 넣고, 바늘을 뽑은 다음, 세번째 silicone sleeve(Fig. 1과 Fig. 2의 S_3)를 후두부의 피부에 밀착시키기 위해서, 도관위에 고정시킨다. 이 외부의 sleeve는 4-0 silk로 하며, 원위부의 외측도관의 길이는 4~5 cm 정도되게 한다. 이때, 각각 sleeve가 고정될 때마다 개통성을 확인하기 위하여, 식염수 0.25 ml로 확장시켜보며 검사하고, 창상은 두겹으로 닫은후, 약 5일간 동물이 회복되기를 기다린 후 실험하였다.

실험 방법으로는 쥐를 폴리에틸렌 상자(30×30×15 cm)에 넣어 1 ml 주사기로 생리식염수를 일정량씩 넣으며, 초기에는 30초간에 5회, 마지막에는 3분동안 지속적으로 팽창을 가하여, 통증에 대한 반응을 평가하였다.

결 과

쥐에서 VPM 시술후 연속적으로 체중의 변화를 관찰한 결과는 Fig. 3과 같다. 이렇게 준비된 쥐들은 시술 5일때부터 실험에 사용했는데, 확장시킨 balloon의 확장량과 자극반응의 강도 및 생존율을 검사한 결과 Schmaus와 Yaksh등이 Acetic Acid Writh-

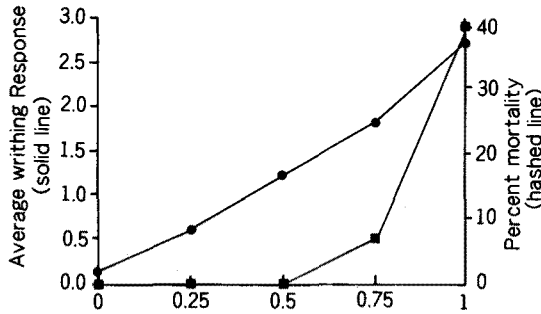


Fig. 4. Visceral Pain Model(VPM) balloon inflation volumes vs. response and mortality. In early developmental studies intraduodenal balloon inflation volumes was related to writhing responses(0~3 scale) and mortality. Volumes above 0.75 ml fluid, while effecting nearly uniform writhing, led to a higher incidence of bowel rupture and subsequent mortality(only 5% survive a 1.0 ml volume test sequence). However lower volumes, 0.5~0.75 ml. show a markedly reduced mortality, less than 10%, while still exhibiting a substantial degree of writhing response.

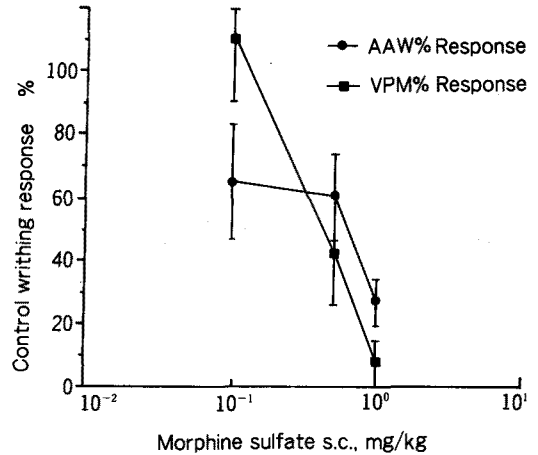


Fig. 5. Dose response to subcutaneous morphine(0.1, 0.5, 1.0 mg/kg) in the mechanical visceral pain model(VPM) and acetic acid writhing tests(AAW).

ing(A.A.W)에서 사용한 0~3 point scale을 그대로 적용할 수 있었다²¹⁾.

Balloon에 주입된 양(0.25 ml, 0.5 ml, 0.75 ml 그리고 1.0 ml)에 따른 반응은 Fig. 4와 같았는데 용량이 1.0 ml 였을때 반응이 scale 3에 도달했으나 오직 59%의 생존률을 보였고, 그 원인은 대부분 십이지장 파열로 보였다. 그러나 0.75 ml때 40마리중 1마리를 제외하고는 그 이하에서는 실험적 팽창에서 어떠한 문제도 없었다.

다음으로 0.75 ml 이하의 양에 의한 실험에 VPM은 morphine과 같은 약제의 진통작용의 검사에 대하여 A.A.W과 마찬가지로 정상적인 반응에 있어 높은 상관관계를 가졌으며(Fig. 5), 장기적인 거치와 동일 동물에서의 반복검사 및 약제의 내성검사에 우수한 효과가 있었다.

고 찰

구심성 내장신경통은 여러 종류의 화학적 및 기계적 자극에 의해서 규명되어져 왔다. 이러한 연구의 결과

화학적 자극과 기계적 자극은 서로 다르게 받아들여지거나 전달되고, 내장신경통의 주요인으로 보이는 내장기의 장력수용체(tension receptors)들로부터의 구심성 신경의 활성화는 압박, 팽창, 근긴장을 일으키는 약제등에 의해서 야기된다고 한다^{8,9)}.

Hagashi등은 내장감각 type C fiber들은 기계적 또는 온각 자극뿐만 아니라, allogene에 대해서도 민감한 반면, 내장감각 type A neuron은 allogenic agents에 대해서는 덜 민감하지만, 기계적 자극에 대해서는 낮은 역치를 갖고, 서서히 반응하여, 이런 type A neuron이 장력수용체로 기능함을 보여주었다^{8,12,15)}. 면역화학적 연구에 의하면, 장벽의 해부학적으로 구분된 층에 내장의 구심성신경과 관련된 신경전달체의 농도가 일정부위에 있고¹⁰⁾, 이러한 기계적 자극수용체의 영역이 화학적 자극에도 민감함을 보여준다고 한다.

Haupt등은 대장에서 기계적 팽창자극과, bradykinin이나 KCL를 사용한 화학적 자극을 가하여 다음과 같은 결론을 얻었다^{5,16)}.

즉, 첫째로 구심성 신경단위는 오직 팽창에만 반응하며, 둘째로 어떤 구심성 신경들은 두 종류의 자극에 다 반응하며, 셋째로 대부분의 구심성 신경들은 두 자극이 동시에 주어질때 활성화한다고 하였다.

Marrison등은 하부장간막동맥 순환을 통한 팽창,

화학적 자극, 허혈등은 대장 통증수용체들을 활성화시키기에 충분하다고 하였다^{5,16,17)}.

쥐의 십이지장이 모델로 채택된 이유로는 위나 위유문부의 팽창이나 폐쇄가 치명적이며, Janing등이 십이지장의 팽창이 소장의 원위부 팽창보다 훨씬 민감하다고 하였다^{17,18)}.

Collier등은 현재 자주 사용되고 있는 화학적 자극 모델등은 복강통증 수용체나 내인성 통각물질로부터 행동반응(writhing)이 일어난다고 하였고^{7,14)}, Derasdt등은 초산이 복강내 PGE₂ 농도를 증가시킨다고 하였는데¹¹⁾, 이로써 aspirin이나 진통소염제등의 화학적 자극에 의한 통증을 차단한다는 것을 이해할 수 있다. 그러나 이때 남은 염증의 정도때문에 반복적 실험이나 내성측정에는 도움이 되지 않는 단점이 있다.

이에 비해 VPM은 이러한 화학적 자극에 대해서 기계적 자극에 의한 내장신경통을 분석할 수 있고, 동일 동물에서 가역적이고, 반복적인 실험이나 진통제의 약리와 내성의 연구에 탁월한 결과를 얻을 수 있다.

이는 반복적 실험 model인 일련의 tail-flick 또는 hot plate test등에서 발견되는 이점을 갖고 있으며, 위장이나 위유문 부위에 팽창이나 폐쇄가 쥐에서는 치명적인데 반하여 십이지장의 팽창은 가역적이며, 반복적 실험을 할 수 있도록 생존율이 높고, 내장기의 보정효과가 매우 높았다.

또한 본 VPM을 통한 실험에서 물편을 쥐에서 피하주사했을 때의 진통효과는 AAW에서보다 더욱 탁월한 상관 관계가 있음을 보여주었다.

결 론

저자들은 쥐의 십이지장에 기계적 자극을 가하는 VPM을 통한 연구방법이, 진통제의 작용기전과 효력을 더욱 명료하게 측정하고, 내장신경통연구에 대한 기본 요소를 충분히 만족시킬 수 있음을 보고하는 바이다.

참 고 문 헌

1) Procacci P, Zoppi M, Maresca M. *Clinical ap-*

proach to visceral sensation: In Cervero, F.; Morrison, J.F.B., eds Progresss in brain research. Amsterdam: Elsevier; 1966: 21-8.

2) Moore DC. *Celiac(splanchnic)plexus block with alcohol for cancer pain of the upper intra-abdominal viscera. In: Bonica JJ; Ventafridda, V., ed. Advances in pain research and therapy. vol. 2. New York: Raven Press; 1979; 357-71.*

3) vander Wende C, Margolin S. *Analgesic tests based upon experimentally induced acute abdominal pain in rats. Fed Proc 1956; 15; 494-99.*

4) Bonica JJ. *Cancer pain. In: Bonica, J. J., ed. Pain. New York: Raven Press; 1980; 335-62.*

5) Blumberg H Haupt P, Janig W, Kohler W. *Encoding of visceral noxious stimuli in the discharge patterns of visceral afferent fibers from the colon. Pflugers Arch 1983; 398: 33-40.*

6) Cervero F. *Somatic and visceral inputs to the thoracic spinal cord of the cat: Effects of noxious stimulation of the biliary system. J Physiol 1983; 337: 51-67.*

7) Collier HO, Dinneen J, Johnson LC, Johnson CA, Schneider C. *The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. Br J Pharmacol. Chemother 1986; 32: 295-310.*

8) Cottrell DF, Iggo A. *Tension receptors with vagal afferent fibers in the proximal duodenum and pyloric sphincter of sheep. J Physiol 1984; 354: 457-75.*

9) Cottrell DF, Iggo A. *The responses of duodenal tension receptors in sheep to pentagastrin, cholecystokinin, and some other drugs. J Physiol 1984; 354: 477-96.*

10) DeGroat WC. *Spinal cord projections and neuropeptides in visceral afferent neurons. In: Cervero, F.; Morrison, J. F. B., eds. Progress in brain research. Amsterdam: Elsevier; 1986; 165-87.*

11) Deraedt R, Jouquey S, Delevallee F, Flahaut M. *Release of prostaglandins E and F in an alogenic reaction and its inhibition. Eur J Pharmacol 1980; 161: 17-24.*

12) Falempin M, Mei N, Rousseu JP. *Vagal mechanoreceptors of the inferior thoracic oesophages, the lower oesophageal sphincter in the sheep. Pflugers Arch 1987; 373: 25-30.*

13) Gaensler EA. *Quantitative determination of the*

- visceral pain threshold in man. J Clin Invest* 1951; 30: 406-20.
- 14) Gyires K, Torma Z. *The use of the writhing test in mice for screening different types of analgesics. Arch Int Pharmacodyn* 1984; 267: 131-40.
- 15) Hagashi H. *Pharmacological aspects of visceral sensory receptors. In: Cervero, F.; Morrison, J.F.B., eds. Progress in brain research. Amsterdam: Elsevier. 1986; 149-62.*
- 16) Haupt P, Janig W, Kohler W. *Response pattern of visceral afferent fibers, supplying the colon, upon chemical and mechanical stimuli. Pflugers Arch* 1983; 398: 41-7.
- 17) Janig W, Morrison JFB. *Functional properties of spinal visceral afferents supplying abdominal and pelvic organs with special emphasis on visceral nociception. In Cervero, F.; Morrison, J.F.B., eds. Progresss in brain research. Amsterdam: Elsevier; 1986; 87-114.*
- 18) Lipkin M, Slesinger MH. *Studies of visceral pain: Measurements of stimulus intensity and duration associated with the onset of pain in esophagus, ileum, and colon. J Clin Invest* 1958; 37: 28-34.
- 19) Schmauss C, Yaksh TL. *In vivo studies on spinal opiate receptor systems mediation antinociception. II. Pharmacological profiles suggesting a differential association of mu, delta and kappa receptors with visceral chemical and cutaneous thermal stimuli in the rat. J Pharmacol Exp Ther* 1984; 228: 1-12.