

Formalin 에 의해 흰쥐의 척수에서 유도된 Fos-like Immunoreactivity 에 미치는 Capsaicin 의 영향

곽지연 · 오우택 *

서울대학교 약학대학

(Received May 11, 1999)

Effect of Capsaicin on the Formalin-induced Fos-like Immunoreactivity in the Spinal Cord of Rat

Jiyeon Kwak and Uhtaek Oh

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

Abstract — Administration of capsaicin produces acute pain and subsequent long-lasting antinociception. The antinociceptive action site of capsaicin is primarily small afferent nerve fibers. However, the effect of capsaicin on the neural activity of dorsal horn neurons are not well understood. The goal of the present experiment was to study the action of capsaicin on activity of dorsal horn neurons using c-fos immunoreactivity in the spinal cord. Intradermal injection of formalin in the hindpaw produced inflammation in the foot pad and increased the number of cells exhibiting Fos-like immunoreactivity (FLI) in the dorsal horn of the spinal cord, suggesting the hyperalgesia because of the apparent inflammation. Intradermal injection of capsaicin prior to formalin injection significantly reduced the number of cells exhibiting FLI induced by formalin and increased the paw-withdrawal latency, suggesting the hypoalgesic effect of capsaicin. Co-administration with capsaicin of capsazepine and ruthenium red, antagonists of capsaicin receptor reversed the reduction of formalin-induced FLI by capsaicin. The antagonists also partially antagonized the antinociceptive effect of capsaicin in the paw-withdrawal test. These results further suggest that capsaicin reduces responses of dorsal horn neurons to the inflammatory nociceptive stimuli in the periphery. Thus, the reduction of FLI subserves the neural mechanisms underlying analgesia produced by capsaicin.

Keywords □ Capsaicin, Fos-like immunoreactivity, analgesia, dorsal horn neurons.

Capsaicin은 고추의 매운맛을 내는 성분으로 주로 C-감각신경섬유와 일부 A δ -신경섬유들을 활성화시켜 통증을 나타냄으로 통증 연구에서 유용히 사용되고 있다.¹⁾ Capsaicin의 작용은 투여 즉시 나타나는 통각작용 뿐 아니라 이후 지속적으로 나타나는 진통작용도 있다. Capsaicin의 통각작용은 이에 의한 말초신경의 흥분에 기인하며 이 흥분작용은 capsaicin에 의한 용량 의존적인 탈분극에 기인한다. 이러한 흥분작용이나 탈분극은 저용량의 capsaicin을 국소 부위에 초기 투여할 때 양이

온이 세포 내로 유입됨으로써 나타난다.¹⁾ 그러나 capsaicin에 의한 통각과는 달리, 고용량이나 전신투여 시에는 지속적인 진통작용이 나타난다. 즉, 성숙한 흰쥐에 capsaicin을 전신 투여하면 기계적 자극, 화학적 자극에 대한 진통작용을 볼 수 있으며,²⁾ 이러한 작용은 용량 의존적으로 나타난다.³⁾ Capsaicin을 좌골신경에 국소 적용시키면 유해열자극에 대해 수일동안 굴곡반사 기간 (withdrawal latency) 이 증가하였다.⁴⁾ 이러한 capsaicin의 작용은 high affinity binding site의 존재⁵⁾ 및 선택적 길항제인 capsazepine이 발견됨에 따라 수용체가 존재할 가능성이 제시되어왔다. 최근 척수후근 절세포에서 capsaicin에 의해 활성화되는 이온 채널이

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-880-7854 (팩스) 02-872-0596

발견되었으며,⁶⁾ 클로닝되어 vanilloid 수용체 1 (VR1)로 명명되었다.⁷⁾ 이 채널은 capsaicin 뿐만 아니라 열 자극에 의해 활성화되는 ligand-gated ion channel로서 비선택적으로 양이온을 통과시키는 것으로 밝혀졌다.^{6,7,8)}

c-Fos는 Ca^{+2} 유입에 의해 신경세포에서 발현되는 proto-oncogene이며 신경이 흥분하면 c-fos가 일시적으로 빠르게 발현되므로⁹⁾ 신경세포의 활성의 지표로 사용되고 있다. Hunt 등은¹⁰⁾ 피부에 열이나 화학적 자극을 가했을 때 실험동물의 척수후각세포에서 c-fos가 많이 발현됨을 발견하였다. 그후로 c-fos를 이용하여 많은 통증 연구들이 진행되어 왔다. c-Fos는 피부의 수용장에 열 자극,¹⁰⁻¹³⁾ 화학적 자극,^{10,12,14,15)}이나 감각신경에 전기적 자극^{16,17)} 등을 가했을 때 발현되며, 또한 내장의 감각 수용장에 유해자극^{18,19)}을 가했을 때, 말초신경의 손상¹³⁾ 등에 의해 나타난다. 이 c-fos는 척수 뿐 아니라 연수,^{2,19)} 시상하부 및 시상,^{20,21)} 대뇌¹²⁾ 등 통각 전달로 전반에서 발현되었다. 뿐만 아니라 morphine을 처리하면 유해자극에 의해 발현된 Fos-like immunoreactivity(FLI)를 억제하였으며,^{5,9)} 이 작용은 morphine 길항제인 naloxone에 의해 반전되었다.²²⁾ 따라서 바로 이 FLI는 지속적이고 반복적 통각작용을 알아보는 데 특히 유용하다.²³⁾

진통작용은 궁극적으로 유해자극이 대뇌의 통각중추에 전달되는 것을 막는 것이므로 통각 전달로의 여러 단계에서 작용할 수 있다. 지금까지 capsaicin에 대한 연구는 주로 이것이 말초에 미치는 영향에 관한 것이 대부분이었으며 이것이 중추신경계의 활성화에 미치는 영향에 대해서는 거의 알려지지 않았다. 특히, capsaicin에 의해 나타나는 진통작용의 신경과학적 연구는 알려져 있지 않았다. 따라서 본 연구는 말초 조직에 투여한 capsaicin이 어떠한 기전으로 진통작용을 일으키는가를 알아보고자 하였으며 특히 척수후각세포의 활성화에 미치는 영향을 척수후각에서의 FLI의 발현 정도를 확인함으로써 알아보고자 하였다. 특히 본 실험에서는 실험동물의 발바닥에 formalin을 투여하여 만성통증을 유도하였고 이에 의해 발현된 FLI가 capsaicin에 의해 얼마나 억제되는가를 보고자 하였다.

실험방법

실험동물 및 약물 처치 - 몸무게 250~350 g의 수컷

Sprague-Dawley 랫트를 서울대학교 실험동물센터에서 공급받아 사용하였다. 5% formalin(150 μ l in saline)을 실험동물의 왼쪽 뒷발바닥에 피내 주사하여 tonic pain을 유도하였다. 또한 capsaicin 처리군은 formalin에 의해 유도된 FLI에 대한 capsaicin의 작용을 보기 위하여 formalin 투여 1시간 전에 vehicle(EtOH: Tween80 : saline=1 : 1 : 8)에 녹인 capsaicin(Sigma) 100 μ l를 왼쪽 뒷발바닥에 피내 주사하였으며 오른쪽 발에는 vehicle을 동량 주사하였다. Capsaicin의 용량에 의한 반응의 정도를 알아보기 위하여 capsaicin 0.5 mM(0.05 μ mole/100 μ l), 5 mM(0.5 μ mole/100 μ l), 50 mM(5 μ mole/100 μ l)의 세가지 용량을 사용하였다.

Capsaicin의 작용에 대한 길항제인 capsazepine (Research Biochemicals Inc.)의 영향을 보기 위해 capsazepine 5 mM(in 50% DMSO)을 capsaicin 5 mM과 함께 투여하였으며 이때의 투여량은 100 μ g가 되도록 하였다. 이와 마찬가지로 capsaicin의 또다른 길항제인 ruthenium red(Sigma) 16.7 mM을 capsaicin 5 mM과 함께 투여하여 이 길항제에 의하여 capsaicin의 작용이 억제되는가를 알아보았다. 각각의 랫트에 약물 투여한 반대쪽 뒷발에 vehicle 100 μ l을 피내 주사하였다. 약물 투여 1시간 후에 양쪽 뒷발바닥에 5% formalin 150 μ l를 주사하여 염증을 유발하였다.

면역조직화학법(Immunohistochemistry) - 유해자극에 의해 발현되는 c-fos proto-oncogene의 gene product를 avidin-biotin peroxidase complex(ABC) technique²⁴⁾ 의해 발색시켰다.

Formalin 투여 3시간 후에 랫트에 sodium pentobarbital 60 mg/kg을 복강 주사하여 깊이 마취시킨 후에 0.05 M phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4) 250~300 ml를 심장 관류시켜 치사시켰다. PBS 관류 즉시 4% paraformaldehyde(in 0.1 M phosphate buffer, 4°C, pH 7.4) 250~300 ml를 관류시켜 척수를 고정하였다. 랫트의 등을 절개하여 노출된 척추를 제거하고 척수의 요수팽대부를 적출하여 4% paraformaldehyde에 넣어 4°C에서 보관했다. Vibratome (TPI, St. Louis, MO, USA)으로 척수의 L₄-L₆ 부위를 50 μ m 두께로 박편했다. 4번째 박편마다 모아 incubation well에 옮긴 후 PBS로 10분씩 2번 세척했다. 0.05M PBS에 3% normal rabbit serum과 0.3% Triton X-100을 녹인 용액(NPBST)에서 1시간 동안 반응시킨 후 NPBS(3% normal rabbit serum in PBS)에 희석

한 anti *c-fos* protein(Pan-fos-antibody; Cambridge Research Biochemicals, Northwich, U.K., 1:1000) 을 가하여 40~48 시간 동안 4°C에서 반응시켰다. 박편을 PBS로 10분간 2번 세척 한 후 NPBS에 1:200으로 희석한 biotinylated anti-sheep IgG (Vectastain) 용액에서 1시간 동안 반응시켰다. PBS로 세척한 후 avidin-biotin peroxidase complex(Vectastain) 용액에서 45분간 반응시켰다. PBS로 3번 세척한 후, 발색용액인 Diaminobenzidine(Sigma) 25 mg, 30% H₂O₂ 8 μl를 60 ml PBS에 녹인 용액에서 척수 조직의 회백질이 갈색으로 변할 때까지 약 5분간 반응시켰다. 염색한 박편을 gelatin-coated slide에 얹어 말린 후 xylene 에서 5분간 탈수하고 cover glass를 덮어 현미경으로 관찰했다.

굴곡반사실험(Paw-Withdrawal Test) – Capsaicin에 의한 진통작용을 측정하기 위하여 formalin을 주사하기 전에 유해열자극에 대한 굴곡반사시간 (paw-withdrawal latency)을 측정하였다. 랫트의 뒷발바닥에 유해열 자극을 가하여 빛을 쬐는 순간부터 발을 피하는 순간까지의 시간 (초)을 측정하여 굴곡반사시간으로 하였다. 빛의 강도는 약물을 투여하지 않은 쪽 발의 굴곡반사시간이 4-5초가 되도록 강도를 조절하였다. 조직의 손상을 피하기 위하여 cut-off frequency를 15초로 하여 이 시간내에 발을 피하지 않으면 빛을 조사하는 것을 중단했다.

자료분석 – 진통작용을 알아보기 위한 굴곡반사실험은 약물 투여한 발과 vehicle 투여한 발에서 유해열 자극에 대한 굴곡반사시간을 비교하였다. 척수에서 발현된 fos-like immunoreactivity(FLI)는 실험동물 한 마리 당 10~15 개의 박편을 사진과 통계처리에 사용하였다. FLI가 발현된 세포의 수와 위치를 파악하기 위하여 사진을 찍었으며 또한 camera lucida drawing tube 를 이용하여 FLI가 발현된 신경세포를 표시하였다. 척수를 formalin 주사한 쪽 혹은 약물을 처리한 동측과 반대측으로 나누어 FLI가 발현된 신경세포 수를 세었고, 각각의 척수후각은 다시 피층 (superficial laminae)과 심층 (deep laminae)으로 나누어 발현된 신경세포 수를 세었다. 박편마다 발현된 세포수의 총합을 박편 수로 나누어 실험동물 한 마리 당의 평균으로 나타내 비교하였다. 통계처리는 ANOVA test 와 Newman-Keuls post-hoc test 를 하였다.

실험결과

Formalin에 의해 유도된 Fos-like Immunoreactivity – Fig. 1에서 나타나듯이 formalin을 흰쥐의 뒷발바닥에 투여했을 때 척수후각에서 FLI가 발현되는 세포의 수를 크게 증가되었으나, formalin을 주사하지 않은 쪽의 척수에서는 FLI가 거의 발현되지 않았다. Fig. 1에서 나타난 점은 FLI를 발현하는 개개의 신경세포를 나타낸 것이다. 척수후각(dorsal horn)에서 많은 신경세포에서 FLI가 발현되었으나, 전각 (ventral horn)에는 FLI가 발현된 세포가 거의 없었다(Fig. 1). Formalin을 주사한 쪽의 척수에서는 74.4 ± 9.5 (n=5)

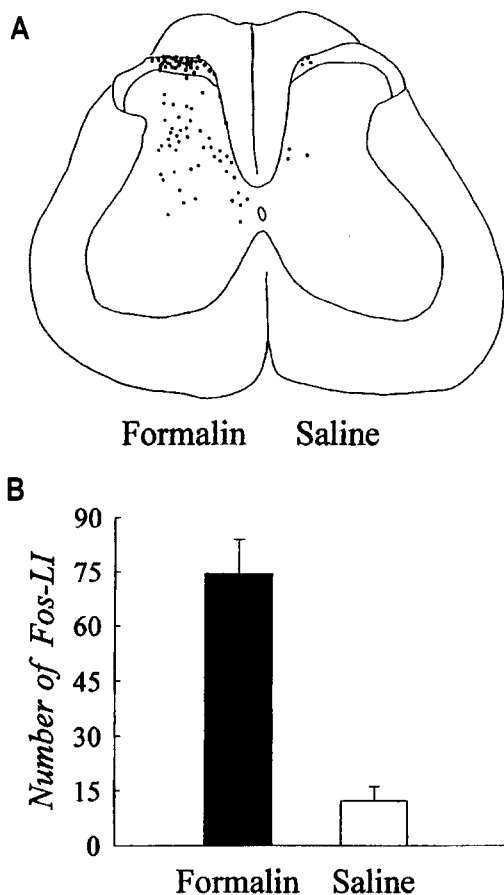


Fig. 1 – Formalin-induced fos-like immunoreactivity (FLI) of the lumbar spinal cord: (A) Camera lucida drawing exhibiting the distribution of cells exhibiting Fos-LI after formalin (5%, 150 μl) or saline was injected intradermally. Each dot represents a neuron exhibiting FLI. (B) Average of FLI per section of the lumbar spinal cord induced after formalin injection.

개의 세포에서 FLI가 발현되었는데(Fig. 1B), 그 분포를 보면 36.3%는 피층에 집중되었으며 63.7%는 심층전반에 걸쳐 나타났다. 대조군으로 saline을 주사한 쪽의 척수에서는 박편 당 12.2 ± 4.0 (n=5)개의 세포에서 FLI가 발현되었다. 이러한 결과로부터 formalin에 의한 염증으로 인해 신경세포의 활성이 증가되면 척수후각의 동측(ipsilateral side)에서 FLI가 많이 발현됨을 알 수 있다.

Formalin으로 유도된 FLI에 미치는 Capsaicin의 작용

Capsaicin이 formalin에 의해 척수후각에서 유도된

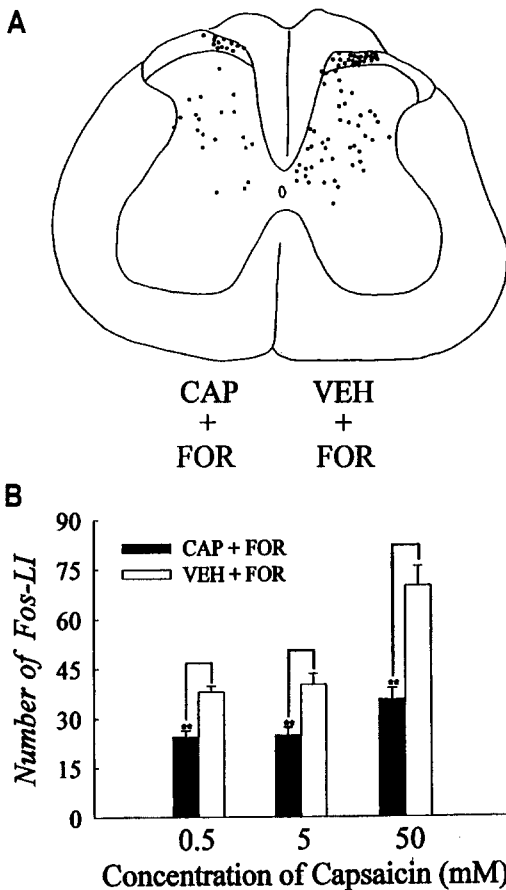


Fig. 2 - Reduction of formalin (FOR)-induced FLI by capsaicin (CAP): (A) Camera lucida drawing exhibiting the distribution of the cells exhibiting FLI. CAP (50 mM, 100 μ l) or vehicle (VEH) was injected intradermally to the hind paw prior to FOR injection. (B) Summary of the effect of intraplantar CAP on the numbers of cells exhibiting FLI induced by FOR injection. (** $p < 0.01$).

FLI에 미치는 영향을 확인하기 위해 왼쪽 뒷발바닥에는 formalin을 주사하기 1시간 전에 capsaicin을 전 처치하고 오른쪽 발에는 formalin만 투여하여 척수후각의 양쪽에서 FLI가 발현되는 세포 수를 비교하였다. Vehicle을 전 처치한 쪽의 척수에서 FLI가 발현된 세포의 개수와 분포는 formalin으로 염증을 유발했을 때 (Fig. 1)와 비슷하게 나타났다 (Fig. 2A). 이에 비해 capsaicin을 투여한 쪽은 FLI가 크게 억제되었으며 이 FLI의 억제는 피층이나 심층전반에 걸쳐 나타났다 (Fig. 2A). Capsaicin에 의한 FLI의 억제는 용량의존적으로 나타났다 (Fig. 2B). 즉, Capsaicin 0.5 mM (0.05 μ mol/ 100 μ l)을 투여했을 때는 vehicle 투여한 쪽의 척수에서는 38.0 ± 2.0 (n=5)개의 세포에서 FLI가 발현되었고, capsaicin 투여한 쪽은 각각 24.2 ± 2.2 개의 세포에서 FLI가 발현되었다 (Fig. 2B). 이는 capsaicin 0.5 mM에 의해 FLI 발현 세포수가 $36.0 \pm 6.1\%$ 감소되었음을 말하고 있다. Capsaicin 5 mM을 전 처치한 동측 척수에서는 FLI가 24.2 ± 2.3 (n=6)개 발현되었으나 vehicle을 투여한 쪽에서는 41.1 ± 3.1 개의 세포에서 FLI가 발현되었다. 이는 5 mM capsaicin이 formalin에 의한 FLI 발현 수를 $39.1 \pm 7.6\%$ 감소시켰음을 뜻한다 ($P < 0.01$). 이에 비해 capsaicin 50 mM을 전 처치한 쪽의 척수에서 FLI가 발현된 세포 수는 vehicle만 주사한 발에 비해 $46.9 \pm 7.7\%$ (n=6) 감소하였다 (Fig. 2B, $P < 0.01$). Capsaicin의 작용은 척수 후각의 피층과 심층에서 차이가 없었다. 이처럼 formalin에 의한 척수에서의 FLI의 수가 capsaicin에 의해 감소한 것은 바로 capsaicin에 의한 통각신호의 억제를 말하는 것으로 해석이 된다.

Capsaicin 수용체 길항제의 영향

Formalin에 의해 발현이 증가된 FLI를 억제하는 capsaicin의 작용이 capsaicin 수용체를 통한 특이적 반응인지를 확인하기 위하여 선택적 길항제인 capsazepine과 ruthenium red의 영향을 확인해 보았다. 척수후각에서 FLI가 발현된 세포 수는 capsazepine 5 mM을 투여한 쪽에서 40.2 ± 8.4 개, vehicle(50% DMSO in saline)을 투여한 쪽에서 44.2 ± 9.3 개로 capsaicin의 formalin에 의한 FLI 유도 억제작용을 반 전시켰다 (Table I). Ruthenium red를 투여한 쪽의 척수 후각에서 FLI가 발현된 세포수는 62.6 ± 8.5 개로 vehicle 투여했을 때의 64.8 ± 6.9 개와 비슷하게 FLI

Table 1 – Effect of capsazepine or ruthenium red on the number of cells exhibiting Fos-like immunoreactivity. Capsazepine (CZP) and ruthenium red (RR) reversed the effect of capsaicin (CAP) on the formalin (FOR)-induced Fos-like immunoreactivity

Antagonist	FOR+CAP+VEH	FOR+CAP+CZP or RR
Capsazepine (n=5)	44.2 ± 9.3	40.2 ± 8.4
Ruthenium red (n=4)	64.8 ± 6.9	62.6 ± 8.5

발현 세포 수를 보임으로서 capsaicin의 작용을 차단하였다(Table 1). 이 결과는 바로 capsaicin에 의한 FLI의 억제가 capsaicin 수용체를 통한 특이적 반응이었음을 나타낸다.

굴곡반사실험 (Paw-withdrawal test)

Formalin에 의해 유도된 급성 염증으로 인한 hyperalgesia에 대해 capsaicin이 진통작용을 일으키는지를 알아보기 위한 실험으로, 약물 투여 후 흰 쥐의 뒷발바닥에 유해열자극을 가하여 발을 피할 때까지의 시간을 측정하였다. Capsaicin 50 mM(5 μ mole/100 μ l)을 formalin 투여직전 투여했을 때는 제한시간(cut-off time)인 15초까지 발을 피하지 않았고, capsaicin 대신 vehicle을 투여한 발은 6.5 ± 1.7초의 굴곡반사시간을 나타내었다(Fig. 3A). 이것은 capsaicin이 강한 진통작용을 유발시켰다는 직접적인 증거가 된다. 이러한 capsaicin의 진통작용은 capsaicin을 투여한 후 5분 이내에 나타나서 4시간 후까지 지속되었으며 용량의존적으로 나타났다. Capsaicin 5 mM(0.5 μ mol, 100 μ l)을 투여한 흰쥐에서 유해열자극에 대해, capsaicin 투여한 발은 9.5 ± 1.8, 반대쪽 발은 4.2 ± 0.6초의 굴곡반사시간을 나타냈다(Fig. 3A). Capsaicin 0.5 mM(0.05 μ mol, 100 μ l) 투여 동물은 capsaicin 투여한 발이 7.9 ± 2.4초의 굴곡반사시간을 보인데 반해 vehicle 투여한 발은 3.7 ± 0.6초의 굴곡반사시간을 보였다. Capsazepine 0.5 mM과 capsaicin 0.5 mM을 함께 전처치한 후 유해열자극에 대한 굴곡반사시간은 7.0 ± 1.2 초로서 capsaicin만 전처치한 발의 9.2 ± 1.2초에 비해 감소하였다(Fig. 3B). Capsazepine은 capsaicin 투여에 의한 굴곡반사시간이 증가하는 것을 완전히 차단하지 못했지만, 그 증가정도는 감소시켰다. Ruthenium red(16.7 μ mol, 100 μ l) 과 capsaicin 5 mM의 병용투여 시에는 유해열자극에 대한 굴곡반사시간은 3.9 ±

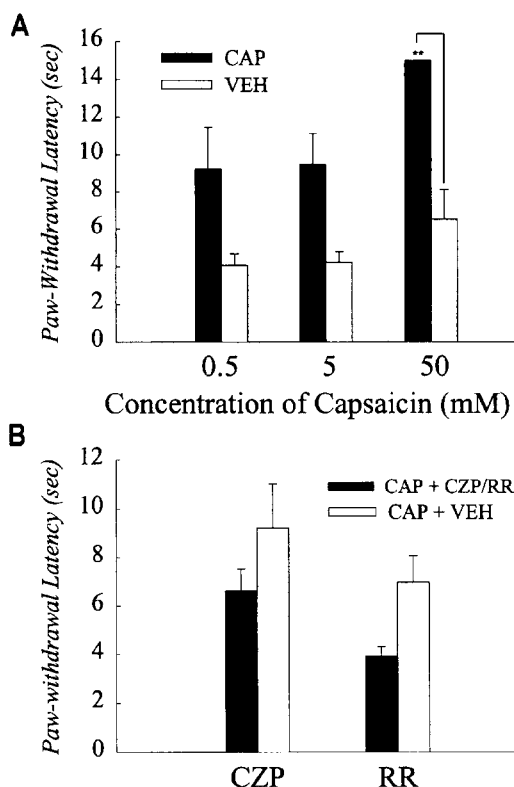


Fig. 3 – Effect of CAP on the paw-withdrawal latency to noxious heat: (A) Intradermal injection of CAP increased the paw-withdrawal latency to noxious heat. (** $p < 0.01$) (B) CAP receptor antagonists, capsazepine (CZP) or ruthenium red (RR), injected intradermally with CAP partially blocked the increase of the withdrawal latency by CAP.

0.5초로 capsaicin만 투여한 발의 굴곡반사시간(6.1 ± 1.1초)과 유의성있는 차이를 보이지 않았다(Fig. 3B).

고 찰

Formalin은 tonic pain을 일으키는 유해한 화학적 자극으로 말초 수용장에 가한 후 척수에서 신경세포의 활성을 측정하면 biphasic하게 신경활성이 증가된다.¹⁾ 유해하지 않은 자극에 반응하는 세포의 활성은 formalin에 의해 변화하지 않으므로 formalin에 의한 자극은 C-신경섬유를 통해 척수로 전달됨을 알 수 있다.

척수후각의 피층은 일차 구심성감각신경 중 A δ , C-신경섬유가 척수후각세포들과 시냅스를 이루는 곳이며 이곳에서 뇌로 통증을 전달하는 상행성 신경전달로가 시작된다.⁵⁾ 유해자극에 의해 척수의 피층에서 발현되는

FLI의 분포가 이들 일차 구심성신경들의 척수내 분포와 일치한다는 것은 피층에서 유도되는 c-fos 발현은 monosynaptic action의 결과라는 것을 시사한다. 특히, medial part는 사지의 원위쪽의 말초에서 들어오는 신경이 분포하는 곳으로 뒷발바닥에 formalin을 가하였으므로 lateral part에서보다 medial part에 FLI가 발현된 세포들이 많이 나타난 것으로 생각된다.¹⁸⁾ Capsaicin이 formalin에 의해 유도된 후각세포의 c-fos 발현을 억제하는 것은 Fitzgerald의 유해열자극에 대한 척수후각세포의 활성을 capsaicin이 억제한다는 전기생리학적 실험결과와 일치한다.¹⁹⁾ Formalin에 의해 척수에서 유도되는 FLI 발현이 capsaicin에 의해 감소하는 것은 formalin에 의한 통증 정보의 전달이 capsaicin에 의해 차단되기 때문이며 이는 capsaicin에 의해 신경 세포의 활성이 탈감작되는 것과 관련이 있을 것으로 사료된다. Capsaicin에 의한 FLI 발현 억제는 formalin을 투여하지 않았을 때와 같은 정도는 아니고 반 정도의 발현 억제만을 보였다. 이는 capsaicin의 진통작용은 척수후각세포의 활성이 100% 차단되지 않고 일부만이 억제되어도 나타난다는 것을 의미한다. 또한 굴곡반사실험 결과로부터 capsaicin 투여에 의해 유해열자극에 대한 반사시간이 길어지는 것으로 보아 FLI의 발현 억제와 진통작용이 일치됨을 알 수 있다. 이러한 진통 작용은 말초에 가해진 capsaicin에 의해 통증 전달에 관여하는 c-섬유들이 탈감작되어 더 이상 염증성 통증을 전달하지 못하기 때문으로 사료된다. 본 연구를 통해서 capsaicin은 피부수용장에 직접 가하였을 때 척수에서 유해자극을 전달하는 세포들의 활성을 억제함을 알 수 있다 이러한 capsaicin의 작용은 capsaicin의 진통작용을 설명하는 것이며 이러한 capsaicin이 척수후각세포에 나타내는 작용이 말초에 투여한 길항제인 capsazepine이나 ruthenium red에 의해 억제되었다는 것은 capsaicin의 진통작용이 말초 수용장에 존재하는 capsaicin 수용체를 경유한 작용이라는 것을 확인하는 것이다. 본 실험의 결과로 흰쥐의 뒷발에 피내 주사한 formalin은 급성 염증을 유도하고 척수후각세포에서 FLI 발현을 크게 증가시키며 이러한 FLI 발현은 capsaicin에 의해 억제됨을 알 수 있다. 또한 capsaicin은 유해열자극으로부터 발을 피하는데 걸리는 시간을 증가시킴으로써 실제 진통 작용이 있음을 확인하였다. 이러한 capsaicin의 진통작용은 capsaicin 수용체의 길항제인 capsazepine에 의해 유의

성있게 억제되었다. 신경 세포에 대한 capsaicin의 작용은 일차적으로 세포를 흥분시키며 자극이 계속될 경우 이차적으로 세포의 활성을 탈감작시켜 더 이상의 자극에 반응하지 못하도록 한다고 알려져 있다. 따라서 본 실험에서 관찰된 capsaicin의 진통 작용은 capsaicin에 의한 신경세포의 탈감작과 관련이 있을 것으로 사료된다.

감사의 말씀

이 연구는 서울대학교 약학대학의 종합약학연구소의 연구비 지원에 의한 결과임을 밝힙니다.

문헌

- 1) Bevan, S. and Szolcsanyi, J.: Sensory neuron-specific actions of capsaicin: mechanisms and application. *Trends Pharmacol Sci*, **11**, 330 (1990).
- 2) Hayes, A. G. and Tyers, M. B.: Effects of capsaicin on nociceptive heat, pressure and chemical thresholds and on substance P levels in the rat. *Brain. Res.*, **189**, 561 (1980).
- 3) Hayes, A. G., Skingle, M. and Tyers, M. B.: Effects of single doses of capsaicin on nociceptive thresholds in the rodent. *Neuropharmacology*, **20**, 505 (1981).
- 4) Fitzgerald, M. and Woolf, C. J.: The time course and specificity of the changes in the behavioural and dorsal horn cell responses to noxious stimuli following peripheral nerve capsaicin treatment in the rat. *Neuroscience*, **7**, 2051 (1982).
- 5) Tolle, T. R., Castro-Lopez, J. M., Coimbra, A. and Zieglgansberger, W.: Opiates modify induction of c-fos proto-oncogene in the spinal cord of the rat following noxious stimulation. *Neurosci. Lett.*, **111**, 46 (1990).
- 6) Oh, U., Hwang, S. W. and Kim, D.: Capsaicin activates a nonselective cation channel in cultured neonatal rat dorsal root ganglion neurons. *J. Neurosci.*, **16**, 1659 (1996).
- 7) Caterina, M. J., Schumacher, M. A., Tominaga, M., Rosen, T. A., Levine, J. D. and Julius, D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*, **389**, 816 (1997).

- 8) Tominaga, M., Caterina, M. J., Malmberg, A. B., Rosen, T. A., Gilbert, H., Skinner, K., Raumann, B. E., Basbaum, A. I. and Julius, D. : The cloned capsaicin receptor integrated multiple pain-producing stimuli. *Neuron*, **21**, 531 (1998).
- 9) Presley, R. W., Menetrey, D., Levine, J. D. and Basbaum, A. I. : Systemic morphine suppresses noxious stimulus-evoked fos protein-like immunoreactivity in the rat spinal cord. *J. Neurosci.*, **10**, 323 (1990).
- 10) Jones, S. L. : Noradrenergic modulation of noxious heat-evoked fos-like immunoreactivity in the dorsal horn of the rat sacral spinal cord. *J. Comp. Neurol.*, **325**, 435 (1992).
- 11) Hunt, S. P., Pini, A. and Evan, G. : Induction of c-fos-like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation. *Nature*, **328**, 632 (1987).
- 12) Krukoff, T. L., Morton, T. L., Harris, K. H. and Jhamandas, J. H. : Expression of c-fos protein in rat brain elicited by electrical stimulation of the pontine parabrachial nucleus. *J. Neurosci.*, **12**, 3582 (1992).
- 13) Williams, S., Evan, G. and Hunt, S. P. : C-fos induction in the spinal cord after peripheral nerve lesion. *J. Neurosci.*, **3**, 887 (1991).
- 14) Anton, F., Herdegen, T., Peppel, P. and Leah, J. D. : C-fos-like immunoreactivity in rat brainstem neurons following noxious chemical stimulation of the nasal mucosa. *Neuroscience*, **41**, 629 (1991).
- 15) Williams, S., Evans, G. I. and Hunt, S. P. : Changing patterns of c-fos induction in spinal neurons following thermal cutaneous stimulation in the rat. *Neuroscience*, **361**, 73 (1990).
- 16) Birder, L. A., Roppolo, J. R., Iadarola, M. J. and de Groat, W. C. : Electrical stimulation of visceral afferent pathways in the pelvic nerve increases c-fos in the rat lumbosacral spinal cord. *Neurosci. Lett.*, **129**, 193 (1991).
- 17) Morgan, J. I. and Curran, T. : Role of ion flux in the control of c-fos expression. *Nature*, **322**, 552 (1986).
- 18) Menetrey, D., Gannon, A., Levine, J. D. and Basbaum, A. I. : Expression of c-fos protein in interneurons and projection neurons of the rat spinal cord in response to noxious somatic articular and visceral stimulation. *J. Comp. Neurol.*, **285**, 177 (1989).
- 19) Hammond, D. L., Preseley, R., Gogas, K. R. and Basbaum, A. I. : Morphine or U-50,488 suppresses fos protein-like immunoreactivity in the spinal cord and nucleus tractus solitarius evoked by a noxious visceral stimulus in the rat. *J. Comp. Neurol.*, **315**, 244 (1992).
- 20) Bullitt, E. : Induction of c-fos-like protein within the lumbar spinal cord and thalamus of the rat following peripheral stimulation. *Brain. Res.*, **493**, 391 (1989).
- 21) Bullitt, E. : Expression of c-fos-like protein as a marker for neuronal activity following noxious stimulation in the rat. *J. Comp. Neurol.*, **296**, 517 (1990).
- 22) Abbadie, C. and Besson, J. M. : Effects of morphine and naloxone on basal and evoked fos-like immunoreactivity in lumbar spinal cord neurons of arthritic rats. *Pain*, **52**, 29 (1993).
- 23) Dickenson, A. H. and Sullivan, A. F. : Subcutaneous formalin induced activity of dorsal horn neurons in the rat: differential response to an intrathecal opiate administered pre or post formalin. *Pain*, **30**, 349 (1987).
- 24) Hsu, S.-M., Raine, L. and Fanger, H. : Use of avidin-biotin peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedure. *J. Histochem. Cytochem.*, **29**, 577 (1981).