

말초신경손상이 척수후근신경절 및 척수에서 Brain-derived neurotrophic factor 발현에 미치는 양상***

하선옥* · 홍해숙**

- Abstract -

Key words : neuropathic pain, nerve injury, BDNF, DRG, spinal cord

Patterns of the peripheral nerve injury on expression of brain-derived neurotrophic factor in dorsal root ganglia and spinal cord in rats

Ha, Sun Ok* and Hong, Hae Sook**

Peripheral nerve injury results in plastic changes in the dorsal ganglia (DRG) and spinal cord, and is often complicated with neuropathic pain. The mechanisms underlying these changes are not known, but these changes seem to be most likely related to the neurotrophic factors. This study investigated the effects of mechanical peripheral nerve injury on expression of brain-derived neurotrophic factor(BDNF) in the DRG and spinal cord in rats.

- 1) Bennett model and Chung model groups showed significantly increased percentage of small, medium and large BDNF-immunoreactive neurons in the ipsilateral L₄ DRG compared with those in the contralateral side at 1 and 2 weeks of the injury.
- 2) In the ipsilateral L₅ DRG of the Chung model, percentage of medium and large BDNF-immunoreactive neurons increased significantly at 1 week, whereas that of large BDNF-immunoreactive neurons increased, but that of small and medium BDNF-immunoreactive neurons decreased at 2 week when compared with those in the contralateral side. The intensity of immunoreactivity of each neuron was lower in the ipsilateral than in the contralateral DRG.

* Research Professor, Department of Genetic Engineering, Kyungpook National University

** Professor, Department of Nursing, School of Medicine, Kyungpook National University

*** 본 연구는 2001년도 기초간호자연과학회 연구비로 이루어졌음.

3) In the spinal cord, the Bennett and Chung model groups showed a markedly increased BDNF-immunoreactivity in axonal fibers of both superficial and deeper laminae.

The present study demonstrates that peripheral nerve injury in neuropathic models altered the BDNF expression in the DRG and spinal cord. This may suggest important roles of BDNF in sensory abnormalities after nerve injury and in protecting the large-sized neurons in the damaged DRG.

1. 서론

동통은 실제적이거나 잠재적인 조직손상과 관련된 불쾌한 감각적, 정서적 경험으로 주관적이고 개인적인 느낌이며(International Association for the Study of Pain, 1979) 대부분의 환자가 경험하는 일반적인 증상의 하나이다. 화상이나 유방절제술 후, 사지절단 수술 후의 환상통, Guillain-Barre 증후군이나 대상포진 신경증 후 발생하는 작열통, 또는 척수손상 환자의 감각이상 등에서 볼 수 있는(서동원, 김세주, 1996) 신경병증성 동통은 자발적이며 기계적인 이질통, 온도과민증, 지각과민, 교감신경통(Bonica, 1990) 등으로 나타나며, 강렬한 병리적 자극이 척수활동을 자극하여 비정상적인 자극반사형태가 나타나고 이는 중추신경계로 확산되어 비정상적인 중추패턴을 생성한다.

일단 비정상적인 중추패턴이 생성되면 말초의 영향을 제거한다 해도 동통은 멈춰지지 않으며, 어떤 자극도 동통유발요소로 작용하기 때문에 자극유입을 조절함으로써 동통을 감소시키거나 또는 동통유발부위나 신경에 일시적으로 마취제를 투여하거나 강한 체성 자극을 가하여 비정상적인 패턴을 방해함으로써 동통을 완화시킬 수 있다(이은옥, 최명애, 1993).

그러나 실제적으로는 이러한 환자를 위한 동통 관리에 대한 표준화된 관리지침이 개발되고 있지

않아 환자는 동통 조절에 실패하기 쉽고 심한 고통을 받는 실정이다.

이러한 신경병증성 동통발생의 원인으로 말초신경 손상 후 말단수용기의 과민화, 교감신경계의 활성화(Kim과 Chung, 1991 ; Hu와 Zhu, 1989) 또는 그 수용기의 변화(Na 등, 1992), 척수후근신경절(dorsal root ganglion ; DRG)이나 척수에서의 축삭의 발아와 가소성 변화(McLachlan 등, 1993 ; Woolf 등, 1992 ; Koerber 등, 1994d) 등이 추정되고 있으며, 이 중 가소성 변화에는 신경영양인자가 작용할 것으로 보인다(Lindsay 등, 19947).

Brain-derived neurotrophic factor(BDNF)는 신경영양인자의 하나로, DRG 및 여러 종류의 신경세포의 생존 혹은 발달에 관여하는 단백질로 신경영양인자로서 작용할 뿐 아니라(Barde 등, 1982) 최근에는 동통조절에도 관여한다는 연구결과들이 보고되었다.

즉, Cho 등(1997a, b)은 말초조직에 염증을 유발시키면 DRG의 작은 신경세포에서 BDNF 단백질과 BDNF mRNA가 증가하며 척수에서는 BDNF 함유축삭종말이 동통과 관련된 층판 I 및 II에서 매우 증가함을 보고하였다. 또한 BDNF를 직접 척수강 내에 주사하면 신경세포의 활성도를 나타내는 c-fos나 nitric oxide synthase(NOS)의 발현이 증가하며(Bennett 등, 1996), BDNF에 특이적이고 친화성이 높은 trkB-IgG 분자를 투여하면 c-fos나 NOS의 발현 증가가 상쇄되므로(Shelton 등, 1995) BDNF는 동통전달과 관련하여

척수후각에 변화를 초래할 수 있다고 생각된다.

또한, DRG의 BDNF는 척수로 수송되며(Zhou와 Rush, 1996) 척수의 후각에는 BDNF 수용체인 *trkB* mRNA와 *trkB* 면역반응물질이 분포하고 있으며(Klein 등, 1990; Zhou 등, 1993), 이외에 말초염증에 의한 동통유발기전에서 척수에서의 중추성 과민반응(central sensitization)의 조절인자로서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Kerr 등, 1999).

이와 같이 BDNF가 말초염증과 관련하여 동통 조절에 중요한 역할을 하는 것은 잘 알려져 있으나, 말초신경 손상시 동통유발기전에서의 역할에 대해서는 거의 알려져 있지 않다.

이에 본 연구에서는 말초신경 손상시 BDNF의 역할을 알아보기 위하여 흰쥐의 좌골신경에 부분손상을 가하거나(Bennett 모델, Seltzer 모델)(Bennett와 Xie, 1988; Seltzer와 Shir, 1998), L₅ 및 L₆ 좌골신경을 결찰하여(Chung 모델)(Kim과 Chung, 1992) 사람에서 관찰되는 신경병증성 동통과 유사한 동통을 나타내는 모델 쥐를 이용하여

DRG와 척수에서의 BDNF 발현 양상을 파악하였으며 이로써 말초신경 손상시 BDNF와 동통유발기전간의 관계를 규명하여 동통유발기전에 대한 이해와 효과적인 동통 관리의 기초 지식을 제공하고자 한다.

2. 연구재료 및 방법

1) 말초신경손상

(1) Chung 모델

체중 150~200gm의 흰쥐(Sprague-Dawley) 12마리(대조군, 실험군 1주, 2주 각 4마리)를 halothane(1~2%), O₂ 및 N₂O(2:1)의 혼합가스로 마취시킨 후, 요추부위 피부의 털을 깎고 척추를 따라 정중선을 절개한 뒤 주위 근육을 제치고 한쪽의 제5 및 제6 요척수신경(L₅와 L₆ spinal nerves)들을 3~0 silk 봉합사로 결찰시킨 다음, 근육과 피부를 다시 봉합해 모델을 만들었다(Fig. 1).

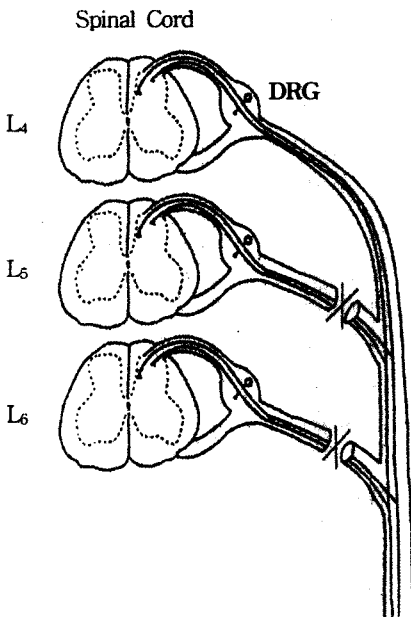


Fig. 1. Chung model

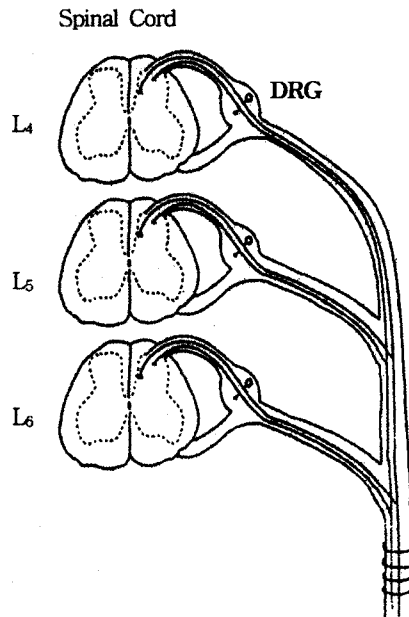


Fig. 2. Bennett model

(2) Bennett 모델

체중 약 300gm의 흰쥐(Sprague-Dawley) 12가리(대조군, 실험군 1주, 2주 각 4마리)를 상기와 같은 방법으로 마취시킨 후 왼쪽 좌골신경을 노출시킨 후 4~0 chromic gut으로 4곳을 살짝 졸라매었다(Fig. 2).

2) 실험절차

(1) 실험동물의 처치반응 실험

피부를 다시 봉합한 후 기계적 과민반응은 결찰 전 1일, 결찰 후 1주 및 2주일에 무해성 기계적 자극으로써 흰쥐의 뒷발바닥에 8.4mN의 von Frey Filament로 각각 10번씩 자극을 가하여 발의 회피반응 빈도율(frequency of withdrawal response) [(발의 회피반응 횟수/10)×100]을 측정하였고, 냉 과민반응은 결찰 전 1일, 결찰 후 1주 및 2주에 솜에 묻힌 아세톤을 뒷발바닥에 각각 5회씩 가하여 발의 회피반응 빈도율을 관찰하였다(Kim 등, 1993 ; Choi 등, 1994).

(2) 조직의 준비

면역조직화합기법을 이용한 실험에서는 수술 후에 sodium pentobarbital로 마취시킨 후 좌심실을 통하여 4℃의 Zamboni 액으로 전신관류를 통한 고정을 하였다. L₄, L₅ DRG 및 척수를 적출한 뒤 4℃의 Zamboni 액에 2시간 후 고정하였으며 다시 4℃의 30% sucrose 용액에 1일간 두었다.

그 후 냉동박절기를 이용하여 -20℃에서 DRG는 10 μ m 두께의 조직절편을 작성하여 젤라틴이 처리된 슬라이드에 부착시켜 다음 사용할 때까지 -70℃의 deep freezer에 냉동보관하고 척수는 40 μ m 두께의 연속조직절편을 0.1M phosphate buffer 용액에 담근 다음 사용할 때까지 4℃의 냉장고에 보관하며, 이들은 1×phosphate buffered saline (PBS) 용액으로 수세한 다음 면역조직염색을 시행하였다.

(3) 면역조직 염색

조직절편이 부착된 슬라이드를 먼저 1×PBS로 2회, 0.3% H₂O₂를 함유하고 50% 알코올이 든 PBS에 1회, 50% 알코올이 든 PBS에 2회, 그리고 1×PBS 용액에 1회 순서로 각각 15분간 수세한 다음 20% normal horse serum(NHS)으로 실온에서 2시간 반응시킨 후, 0.3% triton과 1% NHS를 함유한 PBS용액에 항BDNF 혈청(2 μ g/ml, Amegen)을 희석한 1차 항체로 4℃에서 1일간 반응시켰다.

그 후 Tween-20을 함유한 1×PBST 용액으로 3회, 각각 15분간 반응하지 않은 나머지 항체를 수세한 다음, biotin이 부착된 2차 항체(Vector)로 실온에서 2시간 반응시킨 후 1×PBST 용액으로 3회, 각각 15분간 수세하였다.

그리고 ABC 시약(Vector)으로 2시간 반응시킨 후 1×tris-buffered saline(TBS)(pH 7.4) 용액으로 3회 수세하였다. nickel sulfate(0.3%)가 함유된 용액으로 발색반응을 시키고 1×TBS 용액으로 수세한 다음, 알코올로 탈수, xylene으로 청명, 그리고 canada balsam으로 봉입한 후 현미경으로 관찰하였다.

3) 결과분석

(1) 면역조직 화학염색

DRG과 척수에서 BDNF 면역반응성을 객관적으로 사정하기 위해 컴퓨터를 이용한 영상매체 computer-assisted image(Image Pro Plus, Media Cybernetics, Silver Spring, USA) 프로그램을 사용한다. DRG과 척수에서의 밀도가 배경에 비해 높은 것을 양성반응으로 보았으며 밀도 역치는 모든 표본에서 동일하게 두었다.

BDNF 면역반응성 신경세포의 백분율을 계산하기 위해 각 동물의 DRG로부터 5장의 절편을 선택하여 여기에서 각각 500개씩의 신경세포를 관찰하였다. L₅ 척수부위의 열은 층(laminae I과 II)의 내측 2/3와 깊은 층은 역치밀도 수치를 사용하여

연속 4절편 간격으로 pixel 단위로 표시하였다.

각 DRG과 척수의 평균값을 계산하고 각 시점에서 대조군과 실험군의 값은 t-test로 검정하였다. DRG 신경세포들은 소(<20 μ m), 중(20~40 μ m), 대(>40 μ m)로 분류하였다.

3. 결과

1) 실험동물의 반응변화

척수신경을 절찰한 흰쥐에서는 모두 수술 후 1일 이내에 절찰한 측의 뒷발바닥에서 기계적 과민반응(mechanical hypersensitivity)과 냉 과민반응(cold hypersensitivity)을 나타냈다. 이 반응은 점점 증가하여 수술 후 1주 및 2주째 발의 회피반응 빈도율이 Bennett 모델(Chronic constriction ligation)에서 von Frey filament를 사용했을 때 각각 82%와 86%를 나타냈고, acetone를 사용했을 때 각각 85%와 88%를 나타내었다.

Chung 모델(spinal nerve ligation)에서 von Frey filament를 사용했을 때 각각 85%와 92%, acetone 사용 시 각각 83%와 89%이었다. 한편 절찰을 하지 않은 반대측에서는 이러한 반응을 관찰할 수 없었다.

2) 신경병증성 모델에 따른 DRG와 척수에서의 변화양상

Bennett 모델의 경우 1주 L₅ DRG에서 BDNF 면역반응성을 나타내는 세포들은 전체 신경세포의 24.7%를 차지했으며 작은 크기의 세포 12.6%, 중간 크기의 세포 10.6%, 큰 크기의 세포는 1.4%를 나타내었으며 대조군과 비환측군에 비해 유의한 증가를 보였다(p<0.05).

2주의 L₅ DRG에선 전체 신경세포의 26.9%에서 양성반응을 보였으며 작은 크기의 세포 11.6%, 중간 크기의 세포 14.0%, 큰 크기의 세포가 1.2%를 나타내었고 작은, 중간, 큰 크기의 세포들이 대조군

과 비환측군에 비해 유의하게 증가된 양상을 보였다(p<0.05)(Table 1, Fig. 3).

Chung 모델에서는 1주에 L₄ DRG에서 BDNF 면역반응성은 대조군과 비환측군에 비해 작은 크기의 세포 10.8%, 중간 크기의 세포 10.1%, 큰 크기의 세포 1.2%로 유의하게 증가되었으며(p<0.05), 2주에는 L₄ DRG에서는 작은 크기의 세포 10.1%, 중간 크기의 세포 7.9%, 큰 크기의 세포 0.9%로 대조군과 비환측군에 비해 유의하게 증가되었다(p<0.05)(Table 1, Fig 3).

그러나 1주에서 L₅ DRG의 작은 크기 세포에선 변화가 없었으나 중간 크기의 세포 8.0%와 큰 크기의 세포 3.0%에서 BDNF 면역반응성이 유의하게 증가되었다(p<0.05).

2주 L₅ DRG에서는 작은 크기의 세포 2.0%, 중간 크기의 세포 1.2%로 대조군과 비환측군에 비해 유의하게 감소되었으나(p<0.05) 큰 크기의 세포는 1.6%로 대조군과 비환측군에 비해 유의하게 증가하는 경향을 보였으며, 세포의 염색성이 대조군과 비환측군에 비해 염색성이 낮았다(p<0.05)(Table 1, Fig 4).

한편, 척수에서의 BDNF 면역반응성을 보면 Bennett 모델에서 1주와 2주 각각 척수 후각의 앞은 층과 깊은 층에서 모두 유의한 증가를 보였으며(p<0.05), Chung 모델의 경우 1주의 앞은 층과 깊은 층에선 유의한 증가를 보였으나(p<0.05), 2주의 깊은 층에선 증가는 보였으나 유의하지 않았다(Fig 5, 6).

4. 고찰

말초손상에 따른 DRG과 척수에서의 BDNF 발현양상을 보면 Bennett 모델에서는 DRG의 작은 크기의 세포, 중간 크기의 세포, 그리고 큰 신경세포 모두에서 BDNF 면역반응성이 유의하게 증가되었다. 작은 신경세포에서 BDNF 면역반응성이 증가하는 것은 말초신경의 협착 손상으로 인해 원위부의 축삭이 퇴행성 변성(wallerian degeneration)

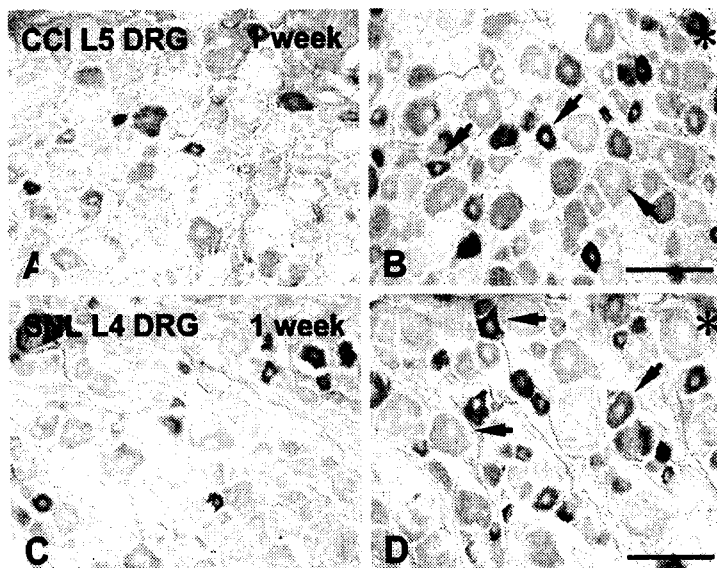


Fig. 3. Photomicrographs of BDNF-immunoreactive(IR) neurons in the contralateral(A, C) and ipsilateral(B, D) L5 DRG(A, B) 1 week after chronic constriction injury(Bennett model) and L4 DRG(C, D) 1 week after spinal nerve ligation(Chung model). After chronic constriction injury and spinal nerve ligation, both the number and intensity of small, medium and large BDNF-IR neurons(arrowheads) in the ipsilateral DRG increased significantly. Asterisks indicate the ipsilateral side. Scale bar = 100 μ m.

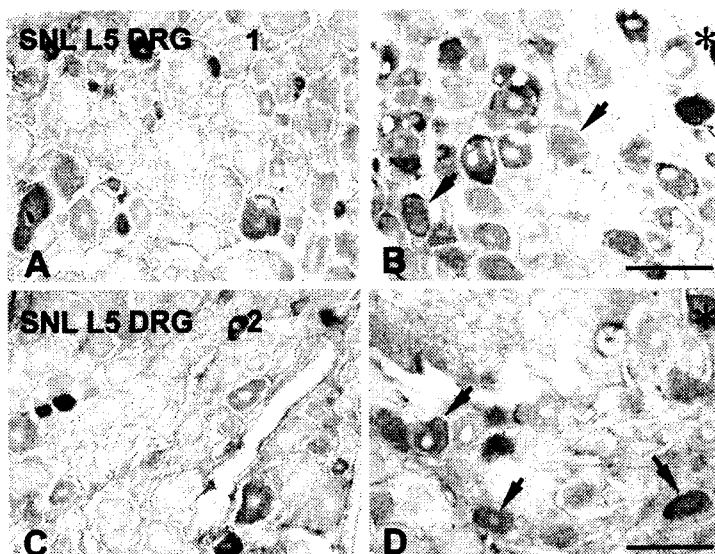


Fig. 4. Photomicrographs of BDNF-immunoreactive(IR) neurons in the contralateral(A, C) and ipsilateral(B, D) L5 DRG 1(A, B) and 2 weeks(C, D) after spinal nerve ligation(Chung model). 1 week after spinal nerve ligation, the percentage of medium and large BDNF-IR neurons(arrows) showed significant increase, while the immunoreactivity of small BDNF-IR neurons showed significant decrease in the ipsilateral DRG(B). 2 weeks after spinal nerve ligation, the percentage of large BDNF-IR neurons(arrows) still remained increased(D). Asterisks indicate the ipsilateral side. Scale bar = 100 μ m.

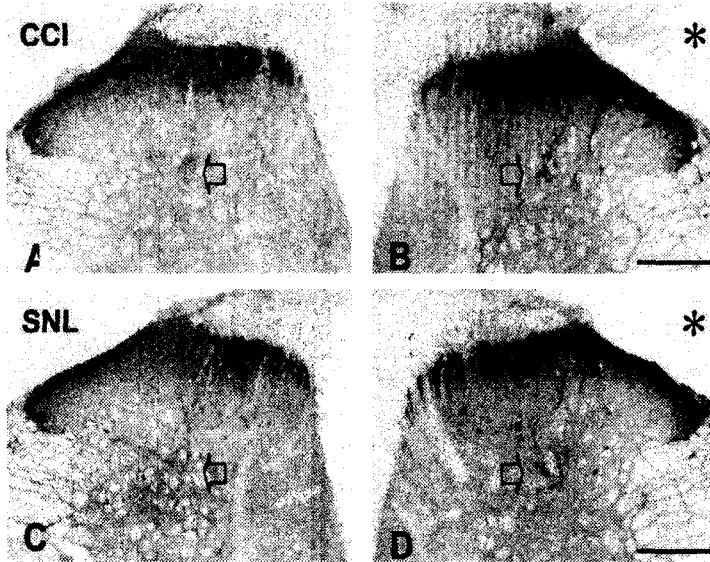


Fig. 5. Photomicrographs of BDNF-immunoreactive(IR) axonal fibers in the contralateral (A, C) and ipsilateral(B, D) L5 spinal dorsal horn 1 week after chronic constriction injury(Bennett model)(A, B) and spinal nerve ligation(Chung model) (C, D). A considerable increase in the expression of BDNF-IR axonal fibers in the medial superficial(I and II) and deeper laminae(IV and V)(open arrows) was induced after chronic constriction injury and spinal nerve ligation. Asterisks indicate the ipsilateral side. Scale bar = 200 μ m

을 일으키게 되며 이곳에서 NGF(nerve growth factor)의 분비가 증가되어 DRG로 이동되기 때문으로 보인다(Mannion 등, 1999).

또한, NGF 수용체인 trkA는 DRG의 작은 신경세포에 주로 발현(Apfel 등, 1996 ; Cho 등, 1997) 되므로 작은 세포에서 BDNF의 면역반응성이 증가된 것은 말초에서의 NGF의 분비증가에 의한 것으로 보인다.

DRG의 중간 크기와 큰 크기 신경세포에서 BDNF 면역반응성의 증가는 NGF에 의해 유도된 것이 아닌 것으로 보이는데, 이는 대부분의 중간 크기의 세포와 큰 신경세포들이 trkA 수용체를 발현하지 않기 때문이다(Averill 등, Molliver 등, 1995).

말초신경의 협착 손상시 수초신경섬유도 손상을 받게 되며, 그 결과로 DRG의 중간 크기의 세

포와 큰 크기의 신경세포에 BDNF의 발현 증가가 나타난 것으로 본다.

좌골신경을 절단한 경우를 보면 손상 후 24시간만에 큰 크기의 신경세포에서 BDNF가 발현했는데, 이는 손상에 대한 반응으로 BDNF의 표현형에 변화가 온 것으로 여겨진다(Zhou 등, 1999).

또 다른 가능성으로, 손상으로 인해 퇴행중인 말초신경에서 분비되는 알려지지 않은 어떤 요소가 후향적으로 운송되어 큰 크기의 신경세포에서 BDNF의 발현을 증가시킬 가능성이 있다.

Chung 모델의 경우 L₄와 L₅의 DRG에서 BDNF 면역반응성이 서로 다르게 발현되었다. L₄ DRG의 경우 작은 크기의 세포, 중간 크기의 세포, 그리고 큰 크기의 신경세포 모두에서 BDNF 면역반응성이 유의하게 증가되었다. 이는 L₅ 척수신경의 손

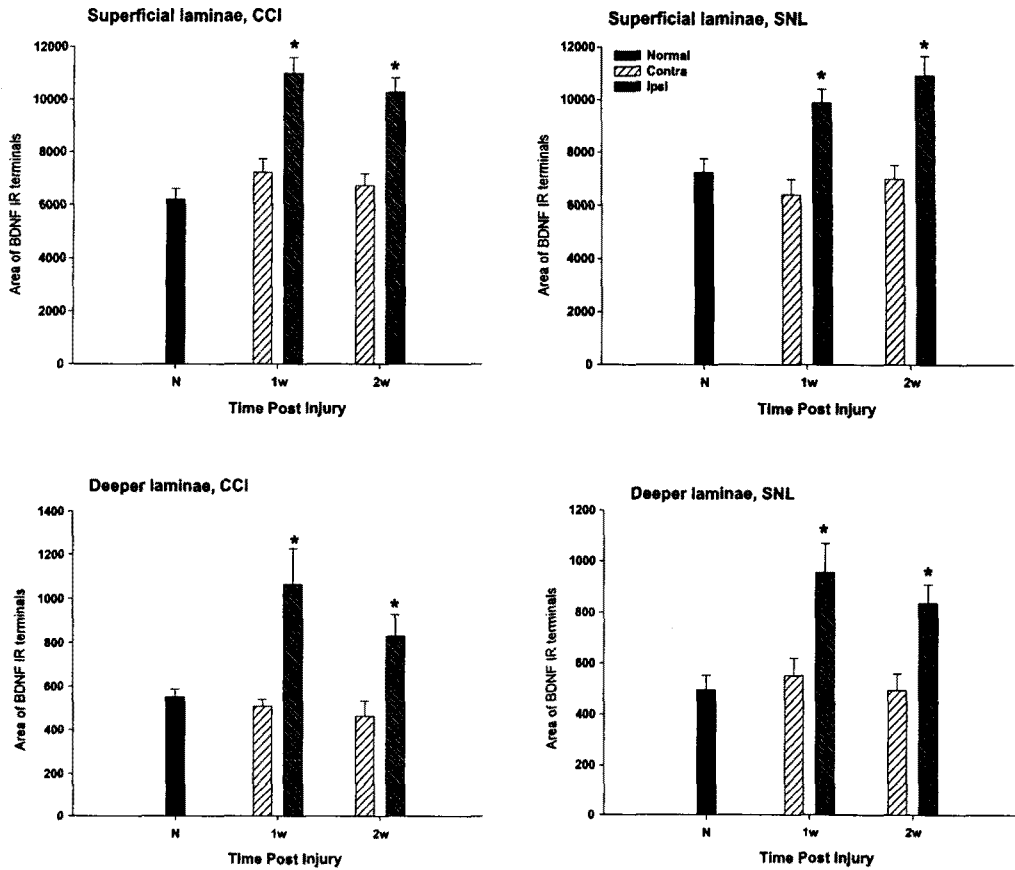


Fig. 6. The area of BDNF-immunoreactive(IR) terminals in normal(N), contralateral (Contra), and ipsilateral(Ipsi) L5 spinal dorsal horn 1 week and 2 weeks after chronic constriction injury(Bennett model) or spinal nerve ligation (Chung model). The area of immunoreactive terminals above a standardized level was quantified using a computer-assisted image analyzer to express in arbitrary pixel units. Mean \pm S.E.M. are shown. *Significant difference from contralateral side. $p < 0.05$.

상 후 좌골신경의 일부가 퇴행성 변화를 일으키며 이에 따라 이곳에서 NGF의 생성이 증가되고 이것은 손상받지 않은 좌골신경 및 L₄ 척수신경을 따라 후향적으로 L₄ DRG로 많이 유입되기 때문인 것으로 생각된다.

L₅ DRG의 경우 Chung 모델 1주에 중간 크기와 큰 크기 신경세포에서 BDNF 면역반응성이 유

의한 증가를 보였으나 작은 크기의 신경세포는 BDNF 면역성이 감소를 보였다.

2주에서는 BDNF 면역반응성이 작은 크기와 중간 크기의 신경세포에서 유의하게 감소되고 큰 크기의 신경세포에서는 계속 유의한 증가를 나타내었다. 이와 같이 작은 크기의 신경세포에서 BDNF 면역반응성이 감소를 보이는 것은 말초로부터

NGF의 유입이 차단된 결과로 보여진다.

신경절단 후 BDNF는 많은 중간 크기의 세포와 큰 크기의 신경세포에서 증가된 BDNF 면역성을 보였는데, 이는 신경손상 후 작은 신경세포와 큰 신경세포에서 BDNF 유전자가 다르게 발현되는 것을 나타낸다.

glutamate는 뇌의 많은 부위에서 Ca^{++} 유입을 유도하여 BDNF의 발현 증가를 자극하는 것으로 알려져 있는데(Timmusk와 Metsis, 1994; Wetmore 등, 1994), 좌골신경 손상 후 N-methyl-D-aspartate(NMDA) 수용체에 의해 세포내로 들어 온 Ca^{++} 이 cAMP response element binding protein(CREB) 전사요소 의존성 기전(Shieh 등, 1998; Tao 등, 1998)을 통해 큰 크기의 신경세포에서 BDNF 유전자 발현을 유도할 가능성이 있다.

말초신경손상 후 척수에서의 BDNF 면역반응성은 척수 후각의 얇은 층 뿐 아니라 깊은 층에서도 증가하였다. 척수 후각의 얇은 층은 주로 높은 역치의 기계적 수용기와 유해성 자극을 전달하며 작은 신경세포에서 비롯되는 무수초 C-신경섬유가 도달되는 곳으로 손상 후 DRG의 작은 신경세포에서 BDNF가 증가되므로 이곳에서도 역시 그 면역반응성이 증가되는 것으로 보인다.

또한, 척수의 깊은 층은 낮은 강도의 기계적 자극과 무해한 감각을 전도하는 곳으로 주로 중간 크기와 큰 크기의 DRG 신경세포의 구성성 섬유가 말단이 있으며, 손상 후 DRG의 큰 신경세포에서 BDNF가 증가되므로 이곳에서도 BDNF 면역반응성이 증가되는데, 이는 무해한 자극에도 동통을 느끼게 되는 이상동통과 관련된 것으로 보인다.

말초신경손상으로 인한 DRG과 척수에서의 BDNF 면역반응성 증가가 기능적인 면에서 어떤 변화를 일으키는지는 확실치 않다. 척수 후각에는 BDNF 수용체인 *trkB* mRNA와 *trkB* 면역반응물질이 분포되어 있으며(Klein 등, 1990; Zhou 등, 1993), 해마체 신경세포를 배양한 실험결과에 의해 BDNF는 glutamate에 의해 발생되는 전위를 강화하고(Jarvis 등, 1997) NMDA 수용체를 급속

히 인산화 할 수 있는 점(Suen 등, 1997), 척수에서의 중추성 과민반응(Kerr 등, 1999)들을 고려해 볼 때 척수의 얇은 층에서 BDNF 면역반응성의 증가는 척수의 후각에서 말초신경손상으로 인한 동통유발과 관련하여 중요한 역할을 하는 것으로 사료된다.

또한, 척수 후각의 깊은 층에서 BDNF의 증가는 말초신경 손상 시의 말초자극에 대한 이 부위의 신경활동이 증가되는 것과 중요한 관련이 있는 것으로 보인다. 따라서, 이러한 결과는 말초신경손상 후의 신경병증성 동통유발에 BDNF가 중요한 역할을 하는 것을 시사한다.

이상의 연구결과로 미루어 보아 신경병증성 동통모델에서의 말초신경손상은 DRG 신경세포와 척수 후각의 얇은 층 및 깊은 층에서 BDNF 면역반응성을 변화시킬 수 있다. 이는 말초신경손상에 의한 비정상적인 감각이상의 초래에 BDNF가 중요한 역할을 하는 것으로 보여지며, 아울러 손상받은 DRG의 큰 신경세포들을 보호하는 것으로 생각된다.

따라서, 이를 근거로 신경병증성 동통진달과 말초신경 손상 후 회복과정 동안의 변화를 예측할 수 있으며, 이에 따라 말초신경손상으로 인한 환자의 이상통증 원리를 이해하고 통증관리를 위한 방향을 제시할 수 있을 것으로 본다.

또한, 동통과 관련된 BDNF의 기능을 더욱 잘 이해하기 위해서 앞으로 신경병증성 모델에 BDNF 항혈청이나 BDNF 억제제 혹은 유전공학적으로 조작된 BDNF 분비세포나 BDNF antisense 등을 주입하여 동통에 대한 반응이나 신경전달물질들의 변화를 관찰해 보는 것이 필요함을 제언하는 바이다.

5. 결 론

말초신경손상은 척수후근신경절(dorsal root ganglion; DRG)과 척수에 성형적인 변화를 가져오며 이는 종종 신경병증성 동통과 연관된다. 그러나

이런 변화에 대한 기전은 정확히 알려져 있지 않으며, 아마도 신경영양인자가 관여할 것으로 보여지고 있다.

이에 본 연구에서는 신경병증성 동통모델에서 DRG과 척수에서의 brain-derived neurotrophic factor(BDNF) 발현이 어떻게 변화하는가를 면역조직화화법을 이용하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) Bennett 모델의 L₅와 Chung 모델의 L₄ DRG의 경우 작은 크기, 중간 크기 그리고 큰 크기의 신경세포에서 1주와 2주 모두 BDNF 면역반응성이 유의하게 증가됨을 보였다.
- 2) Chung 모델의 L₅ DRG에서는 1주에 중간 크기와 큰 크기의 신경세포에서만 BDNF 면역반응성의 유의한 증가를 보였다. 그리고 2주 DRG에서는 작은 크기, 중간 크기의 신경

세포에서 BDNF 면역반응성이 유의하게 감소됨을 보였으나 큰 크기의 신경세포는 유의하게 증가를 보였고 대조군에 비해 매우 낮은 염색성을 나타냈다.

- 3) Bennett 모델과 Chung 모델 모두 척수의 얇은 층과 깊은 층에서 증가된 BDNF 면역반응성을 나타냈다.

이상의 연구결과들로 미루어 보아 신경병증성 동통모델에서의 말초신경손상은 DRG 신경세포의 척수 후각의 얇은 층 및 깊은 층에서 BDNF 면역반응성을 변화시키며, 이는 말초신경손상에 의한 비정상적인 감각이상의 초래에 BDNF가 중요한 역할을 하는 것으로 보여지며, 아울러 손상된 DRG의 큰 신경세포들을 보호하는 것으로 생각된다.

참고문헌

- 서동원, 김세주(1996). 실험적으로 유발된 흰쥐의 신경병증성 동통에 대한 약물치료의 효과, 대한재활의학회지, 20, 16-27.
- 이은옥, 최명애(1993). 통증-이론 및 중재, 서울 : 신광출판사.
- Apfel, S. C., Wright, D. E., Wiideman, A. M., Dormia, C., Snider, W. D., Kessler, J. A.(1996). Nerve growth factor regulates the expression of brain-derived neurotrophic factor regulates the expression of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the peripheral nervous system. Mol. Cell. Neurosci., 7, 134-142.
- Averill, S, McMahon, S. B., Clary, D. O., Reichardt, L. F., Priestley, J. V.(1995) Immunocytochemical localization of trkA receptors in chemically identified subgroups of adult rat sensory neurons. Eur. J. Neurosci., 7, 1484-1494.
- Barde, Y. A., Edgar, D., Theomen, H.(1982). Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. Eur. Molec. Biol. Org. J., 1, 549-553.
- Bennett, D. L. H., French, J. S., Priestley, J. V., McMahon, S. B.(1996). The effect of BDNF on c-foss and NOS expression in dorsal horn neurons of the adult rat spinal cord. Soc. Neurosci. Abst., 22, 993.
- Bennett, G. J., Xie, Y. K.(1988). A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. Pain, 33, 87-107.
- Bonica, J. J.(1990). Anatomic and physiologic basis of nociception and pain. In: Bonica J.J.(ed.) : The management of pain(2nd ed.). Malvern : Lea and Febiger.

- Cho, H. J., Kim, J. K., Park, H. C., Kim, J. K., Kim, D. S., Ha, S. O. and Hong, H. S.(1998). Changes in brain-derived neurotrophic factor immunoreactivity in rat dorsal root ganglia, spinal cord, and gracile nuclei following cut or crush injuries. Exp. Neurol. **154**, 224-230.
- Cho, H. J., Kim, J. K., Zhou, X. F. and Rush, R. A.(1997a). Increased brain-derived neurotrophic factor immunoreactivity in rat dorsal root ganglia and spinal cord following peripheral inflammation. Brain Res. **764**, 269-272.
- Cho, H. J., Kim, S. Y., Park, M. J., Kim, D. S., Kim, J. K. and Chu, M. Y.(1997b). Expression of mRNA for brain-derived neurotrophic factor in the dorsal root ganglion following peripheral inflammation. Brain Res. **749**, 358-362.
- Choi, Y., Yoon, Y. W., Na, H. S., Kim, S. H., Chung, J. M.(1994). Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. Pain. **59**, 369-376.
- Coderre, T. J., Katz, J., Vaccarino, A. L., Melzack, R.(1993). Contribution of central neuroplasticity to pathological pain : Review of clinical and experimental evidence. Pain. **52**, 259-285.
- Hu, S. J., Zhu, J.(1989). Sympathetic facilitation of sustained discharges of polymodal nociceptors. Pain, **38**, 85-90.
- International Association for the Study of Pain(IASP), Subcommittee on Taxonomy. Pain terms(1979). A list with definitions and notes on usage. Pain, **6**, 249-252.
- Jarvis, C. R., Xiong-Z. G., Plant, J. R., Churchill, D., Lu-W. Y., MacVicar, B. A., MacDonald, J. F.(1997). Neurotrophin modulation of NMDA receptors in cultured murine and isolated rat neurons. J. Neuropathy. **78**, 2363-2371.
- Kerr B. J., Bradbury E. J., Bennett D. L. H., Trivedi P. M., Dassan P., French J., Shelton D. B., McMahon S. B. and Thompson S. W. N.(1999). Brain-derived neurotrophic factor modulates nociceptive sensory input and NMDA-evoked responses in the rat spinal cord. J. Neurosci., **19**, 5138-5148.
- Kim S. H., Chung J. M.(1992). An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. Pain, **50**, 355-363.
- Kim, S. H., Chung, J. M.(1991). Sympathectomy alleviates mechanical allodynia in an experimental animal model for neuropathy in the rat. Neurosci. Lett., **134**, 131-134.
- Kim, S. H., Na, H. S., Sheen, K., Chung, J. M.(1993). Effects of sympathectomy on a rat model of peripheral neuropathy. Pain, **55**, 85-92.
- Klein, R., Martin-Zanca, D., Barbacid, M., Parada, L. F.(1990). Expression of the tyrosine kinase receptor gene *trkB* is confined to the murine embryonic and adult nervous system. Development, **109**, 845-850.
- Koerber, H. R., Mirmics, K., Brown, P. B., Mendell, L. M.(1994). Central sprouting and functional plasticity of regenerated primary afferents. J. Neurosci. **14**, 3655-3671.
- Lindsay, R. M., Wiegand, S. J., Altar, C. A., Distefano P. S.(1994). Neurotrophic factors: from molecule to man. Trends in neuroscience, **17**, 182-190.
- Mannion R. J., Costigan M., Decosterd, I., Amaya F., Ma Q. P., Holsteges J. C., Ji, R. R., Acheson A., Lindsay R. M., Wilkinson G. A. and Woolf, C. J.(1999). Neurotrophins : peripherally and

- centrally acting modulators of tactile stimulus-induced inflammatory pain hypersensitivity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **96**, 9385-9390.
- McLachlan, E. M., Jang, W., Devor, M., Michaelis, M.(1993). Peripheral nerve injury triggers noradrenergic sprouting within dorsal root ganglia. Nature, **363**, 543-546.
- Molliver, D. C., Radeke, M. J., Feinstein, S. C., Snider, W. D.(1995). Presence or absence of trkA protein distinguishes subsets of small sensory neurons with unique cytochemical characteristics and dorsal horn projections. Journal of comparative Neurology, **361**, 404-416.
- Na, H. S., Leem, J. W., Kim, S. H., Chung, J. M.(1992). Sensory receptors responsible for mechanical allodynia in a rat neuropathic pain model. Soc. Neurosci. Abst., **18**, 288.
- Seltzer, Z., Shir, Y.(1988). Lack of sensitization of primary afferent receptors by prostaglandins in a rat model of causalgic chronic pains. Agents Actions, **25**, 252-254.
- Shelton, D. L., Sutherland, J., Gripp, J., Camerato, T. Armanini, M. P., Phillips, H. S., Carroll, K., Spencer, S. D., Levinson, A. D.(1995). Human trks ; molecular cloning, tissue distribution and expression of extracellular domain immunoadhesins. J. Neurosci., **15**, 477-491.
- Shied, P. B., Hu, S. C., Bobb, K., Timmusk, T., Ghosh, A.(1998). Identification of a signaling pathway involved in calcium regulation of BDNF expression. Neuron, **20**, 727-740.
- Suen, P. C., Wu, K., Levine, E. S., Mount, H. T. J., Xu, J. L., Lin, S. Y.(1997). Brain-derived neurotrophic factor rapidly enhances phosphorylation of the postsynaptic N-methyl-D-aspartate receptor subunit 1. Pro. Natl. Acad. Sci. USA, **94**, 8191-8195.
- Tao, X., Finkbeiner, S., Arnold, D. B., Shaywitz, A. J., Greenberg, M. E.(1998). Ca²⁺ influx regulates BDNF transcription by a CREB family transcription factor-dependent mechanism. Neuron, **20**, 709-726.
- Timmusk T. and Metsis M.(1994). Regulation of BDNF promoters in the rat hippocampus. Neurochem. Int., **25**, 11-15.
- Wetmore C., Olson L. and Bean A. J.(1994). Regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression and release from hippocampal neurons is mediated by non-NMDA type glutamate receptors. J. Neurosci., **14**, 1688-1700.
- Woolf, C. J., Shortland, P., Coggeshall, R. E. (1992). Peripheral nerve injury triggers central sprouting of myelinated afferents. Nature, **355**, 75-78.
- Zhou, X. F., Chie, E. T., Deng, Y. S., Zhong, J. H., Xue, Q., Rush, R. A., Xian, C. J.(1999). Injured primary sensory neurons switch phenotype for brain-derived neurotrophic factor in the rat. Neuroscience, **92**, 841-853.
- Zhou, X. F., Parada, L. F., Soppet, D., Rush, R. A.(1993). Distribution of trkB tyrosine kinase immunoreactivity in the rat central nervous system. Brain Res., **17**, 63-70.
- Zhou X. F., Rush, R. A.(1996). Endogenous brain-derived neurotrophic factor is anterogradely transported in primary sensory neurons. Neuroscience, **74**, 945-953.