

Alterations in Meningeal Blood Flow by Stimulation of Trigeminovascular System in Rats

Byung Soo Kim¹, Chang Hwa Choi¹ and Won Suk Lee^{2†}

¹Department of Neurosurgery, ²Department of Pharmacology, College of Medicine, Pusan National University, Busan 602-739, Korea

The aim of this study was to investigate the alterations in meningeal blood flow by stimulation of trigeminovascular system. An open cranial window was prepared on the right parietal bone of male Sprague-Dawley rats. Trigeminovascular system was stimulated by electrical stimulation of trigeminal ganglion (ETS), somatosensory (whisker) stimulation, or topical applications of capsaicin and neuropeptides including substance P and calcitonin gene-related peptide (CGRP). Neonatal capsaicin pretreatment was performed with subcutaneous administration of capsaicin (50 mg/kg) within the first 24 hours after birth. Changes in regional blood flow of dural artery (rDBF) and pial artery (rPBF) were continuously measured through the cranial window by laser-Doppler flowmetry. Both ETS and capsaicin caused a chain of alterations in rPBF and rDBF responses, i.e., an immediate transient decrease followed by rapid and marked increase in rPBF, which were significantly attenuated not only by pretreatments with L-733,060, a NK₁ receptor blocker, CGRP₈₋₃₇, a CGRP₁ receptor blocker, and 7-nitroindazole monosodium salt (7-NINA), a neuronal nitric oxide synthase inhibitor but also by neonatal capsaicin treatment. Exogenous neuropeptides including substance P and CGRP increased the meningeal blood flow, which was significantly attenuated not only by pretreatment with L-733,060 and CGRP₈₋₃₇, respectively, but also by pretreatment with 7-NINA. The rPBF response to whisker stimulation was significantly attenuated not only by trigeminovascular system injuries including nasociliary nerve denervation and neonatal capsaicin treatment but also by pretreatments with L-733,060, CGRP₈₋₃₇ and 7-NINA. These results suggest that the stimulation of trigeminovascular system causes prominent alterations in meningeal blood flow, and that neuropeptides as well as nitric oxide in the trigeminovascular system are importantly implicated in the regulation of meningeal blood flow.

Key Words: Trigeminovascular system, Meningeal blood flow, Nitric oxide

서 론

삼차신경혈관계 (trigeminovascular system)는 삼차신경의 감각신경세포와 두개내 혈관 사이를 통합하여 일컫는 부위로서 자극을 받게 되면 뇌막 (meninges) 내 혈관주위의 통각 수용성 들신경섬유에서 substance P와 calcitonin gene-related peptide (CGRP) 같은 신경펩티드를 유리하여 혈관을 확장시키고 염증을 유발한다고 알려져 있다 (Moskowitz, 1992).

뇌막은 체내 다른 구조물의 섬유성 피막과 유사한 구조를 하고 있으며 동통에 민감한 수용체를 고밀도로 가지고 있다. 뇌막에 존재하는 동통-민감성 신경섬유는 동통 신호를 뇌

내의 통각중추로 보낼 뿐만 아니라 신경성염증 발생을 매개하기도 한다. 특히 뇌경막 (dura mater)은 뇌를 둘러싸고 있는 두꺼운 보호막으로서의 역할을 하면서, 천공성 모세혈관과 내피세포를 가진 혈관들을 가지고 있고 (Andres et al., 1987), 신경펩티드를 함유하는 삼차신경 및 상경부 감각신경 섬유 분포를 받고 있으면서, 비만세포를 많이 가지고 있어 (Mayberg et al., 1984; Steiger et al., 1982) 신경성염증 발생에 필요한 최소한의 요건을 모두 갖추고 있으므로 두통의 중요한 원천지라고 여겨지고 있다.

편두통은 혈관성 두통의 대표적인 형태로서 오래 전부터 혈관긴장도의 변동에 의하여 매개되는 것으로 여겨져 왔다 (Ray and Wolff, 1940). 근래에 Sung et al. (1997)은 편측성 전조 (aura)가 있는 편두통 환자에서 국소적 뇌혈류의 감소가 전조 영역과 일치하게 관찰됨을 보고한 바 있고, Bednarczyk et al. (1998)은 전조가 없는 편두통 환자의 두통 발작 동안의 양전자방출단층촬영술 조사에서 뇌 내의 산소대사 또는 산소소모량은 변동이 없었지만 뇌전체의 혈류 및 뇌혈액량이

*논문 접수: 2005년 8월 23일

수정재접수: 2005년 9월 20일

†교신저자: 이원석 (우) 602-739 부산광역시 서구 아미동 1가 10, 부산대학교 의과대학 약리학교실

Tel: 051-240-7729, Fax: 051-244-1036

e-mail: wonslee@pusan.ac.kr

감소되었다고 보고하였다. 이와 같이 편두통과 관련하여 뇌 혈류량 및 뇌혈류속도 등에 관한 연구는 편두통 환자를 대상으로 직접 시행하고는 있으나 전조가 있는 편두통 환자에서 편두통 발작 직전의 전조기에 여러 방향으로 연구된 바는 거의 없는 실정이다. 특히 두개내 삼차신경혈관계를 자극하였을 때 뇌막혈관의 혈류역학에 변동이 초래되는지는 아직 자세히 밝혀져 있지 않다.

한편, 편두통을 비롯한 혈관성 두통에 있어서 nitric oxide (NO)가 매우 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다. 여러 보고에서 nitroglycerin과 같은 NO 공여 약물을 편두통 환자나 다른 형태의 두통 환자에게 정맥 투여하였을 때 편두통과 유사한 두통이 유발되었다고 하고 (Iversen et al., 1989; Olesen et al., 1993; Thomsen et al., 1993; Olesen et al., 1994, 1995), 뇌경막 내 들신경을 전기자극하였을 때 초래되는 뇌경막동맥혈류의 증가 반응이 NO 합성 억제제인 N^o-nitro-L-arginine methyl ester에 의하여 약화되었다고 한다 (Messlinger et al., 2000). 그러나 현재까지 혈관성 두통의 병태생리학과 뇌막혈관 혈류역학에 있어서 NO가 가지고 있는 정확한 역할은 물론 두개내 삼차신경혈관계에 대한 영향이 아직 자세히 밝혀져 있지 않은 실정이다.

따라서 본 연구에서는 삼차신경혈관계의 자극에 의한 뇌막혈관들의 혈류 변동을 구명해 보고자 하였다. 실험동물을 사용하여 삼차신경절을 전기자극하거나 외인성 신경펩티드를 투여함으로써 삼차신경혈관계를 자극하고, 이때 초래되는 뇌막혈류의 변동에 대하여 삼차신경혈관계에 손상을 일으키거나 각 신경펩티드의 수용체 차단제 또는 신경세포성 NO 합성효소 억제제의 전처치하였을 때의 효과를 검색하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

체중 250~300 g의 Sprague-Dawley계 숫쥐를 사육장 (실내 온도 20~25°C) 내에서 물과 사료를 마음껏 섭취하게 하면서 사육하였다가 실험에 사용하였다. 본 실험에 사용된 실험동물의 수는 대조군 34 마리, NK₁ 수용체 차단제인 L-733,060 전처치군 25 마리, CGRP₁ 수용체 차단제인 CGRP₈₋₃₇ 전처치군 22 마리, 신경세포성 NO 합성효소 억제제인 7-nitroindazole monosodium salt (7-NINA) 전처치군 32 마리, 그리고 삼차신경혈관계 손상군 18 마리 (코섬모체신경 절단군 6 마리 및 신생기 capsaicin 처리군 12 마리)로서 총 131 마리가 있었다. 이들 중 50 마리는 뇌경막동맥혈류 측정에 사용되었고, 나머지 81 마리는 뇌연막동맥혈류 측정에 사용되었다.

2. 일반 수술 조작

실험동물을 urethane (1 g/kg, i.p.)으로 마취시키고 소동물용

자동 보온 전기방식 (Homeothermic Blanket System, Harvard Apparatus, Edenbridge, Kent, UK) 위에 바로 눕힌 채 고정하여 체온을 37°C로 유지시켰다. 기관절개술을 시행하여 14G catheter로 기도를 확보하고 gallamine (3~5 mg/kg, i.m.)을 투여하여 골격근을 마비시킨 다음 동물용 호흡기 (683, Harvard Apparatus, South Natick, MA, USA)를 사용하여 체중을 기준으로 분당 50~60 회의 호흡을 유지시켰다. 양측 대퇴동맥에 PE-50 polyethylene 관을 삽관하고, 이를 통하여 동맥혈의 O₂ 분압과 CO₂ 분압 및 pH를 혈액가스분석기 (i-STAT Portable Clinical Analyzer, i-STAT Corporation, East Windsor, NJ, USA)로 측정하여 전 실험기간 동안 PaCO₂의 변화가 기저치의 3~4% 이내에서 이루어지도록 호흡을 조절하여 유지시켰다.

3. 혈압 변동 측정

전신혈압의 변동을 관찰하기 위하여 실험동물의 대퇴동맥에 삽입되어 있는 polyethylene 관을 압력변환기 (pressure transducer: Satham P23D, Gould, Cleveland, OH, USA)에 연결하고, MacLab (4s, ADInstruments, Castle Hill, Australia)과 Macintosh computer (Power Macintosh 7500/100, Seoul, Korea)로 구성된 자료 자동저장분석시스템 (data acquisition system)에 기록하였다.

4. 개방 두개창 설치

일반적인 수술전 조작이 끝난 후 실험동물의 체위를 복와위로 변경시키고 머리를 정위기구 (900, David Kopf Instruments, Tujunga, CA, USA)에 고정시켰다. 두피를 정중선을 따라 절개하여 양측으로 벌린 후 입체현미경 (Stemi SV6, Carl Zeiss, Jena, Germany) 하에서 관상봉합의 미측에 위치한 우측 두정골에 saline-cooled drill (395, Dremel, Racine, WI, USA)을 사용하여 개두술 (5×5 mm)을 시행하고 뇌경막과 지주막을 온전하게 보존시켰다. 그 후 미리 37°C로 가온한 인공 뇌척수액을 관류시켰다. 사용한 인공 뇌척수액의 조성은 다음과 같다: Na⁺ 156.5 mEq/L, K⁺ 2.95 mEq/L, Ca²⁺ 2.5 mEq/L, Mg²⁺ 1.33 mEq/L, Cl⁻ 138.7 mEq/L, HCO₃⁻ 24.6 mEq/L, dextrose 66.5 mg/dL, urea 40.2 mg/dL (pH 7.4).

5. 국소 뇌혈류 변동 측정

실험동물의 머리를 정위기구에 고정시키고, 개방 두개창을 통하여 laser-Doppler flowmeter (BLF21, Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA)용 needle probe (type NS)를 정위 미세조작장치 (stereotactic micromanipulator)를 사용하여 대뇌겉질 표면에 수직이 되도록 뇌경막동맥 또는 뇌연막동맥에 조심스럽게 접근시켰다. 일정 시간 동안 안정시킨 후 실험 protocol에 따라 국소 뇌혈류의 변동을 측정하였다. Laser-Doppler flowmeter에 의하여 측정된 국소 뇌혈류의 변동은 MacLab과

Macintosh computer로 구성된 자료 자동저장분석시스템에 기록하였다.

6. 코섬모체신경 절단

실험동물을 thiopental sodium (40 mg/kg, i.p.)으로 마취시키고 Suzuki et al. (1990)의 방법에 따라 안와벽 내측 상부의 두피를 곡선절개한 후 안구를 외측으로 견인시켜 벌집뼈구멍 (ethmoidal foramen)을 노출시켰다. 벌집뼈구멍 내에 존재하는 코섬모체신경 (nasociliary nerve)을 전기소작 및 절단시켜 제거하였다. 수술 후 penicillin G (10,000 unit/kg, i.m.)를 투여하고 사육장으로 되돌려 보내어 최소한 2 주 동안 회복시켰다가 실험에 사용하였다.

7. 신생기 capsaicin 처치

일차들신경섬유를 전반적으로 손상시키기 위하여 Jancso et al. (1977)의 방법에 따라 출생 48 시간 이내의 신생 백서에게 capsaicin 50 mg/kg을 피하주사하여 먼말이집감각신경 섬유를 파괴하고 약 2 개월 후 실험에 사용하였다. 실험을 시작하기 전에 소량의 capsaicin (1 μ M)을 각막에 국소 투여하여 붉으므로써 이 자극에 대한 반응의 소실 유무를 확인하고 동공 변화가 있을 때 그 백서는 실험에서 제외시켰다.

8. 몸감각 자극

모든 수술 조작을 마치고 실험동물의 머리를 정위기구에 고정시킨 다음 혈압이 안정되도록 기다렸다가 각막반사와 꼬리꼬집음 (tail pinch) 반응이 소실되었음을 확인하였다. 그 후 Cox et al. (1993)의 방법을 응용하여 낙타모필로써 두개창이 설치된 반대측 안면의 구레나룻 (whiskers)을 4 Hz로 1 분 동안 편향자극하였다. 이 몸감각 자극을 3 분 간격으로 세 차례 시행하여 그 때 야기되는 뇌연막동맥혈류 변동 곡선들의 아래 영역의 면적을 평균하여 몸감각 자극에 의한 뇌연막동맥혈류의 변동치로 하였다.

9. 사용 약물

본 연구에서 사용한 주요 약물은 capsaicin, substance P, calcitonin gene-related peptide (CGRP), CGRP₈₋₃₇ (이상 Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), L-733,060 및 7-nitroindazole monosodium salt (7-NINA; 이상 Tocris Cookson Ltd., Avonmouth, Bristol, UK) 등이었다. Capsaicin은 에탄올: Tween 80: 0.9% 생리식염수 (1:1.8 v/v) 혼합용액에 용해하여 0.9% 생리식염수 또는 인공 뇌척수액으로 희석하였다.

10. 통계 처리

모든 측정치는 평균 \pm 표준오차로 표시하였다. 실험성적들은 통계프로그램인 Prism (version 3.03, GraphPad

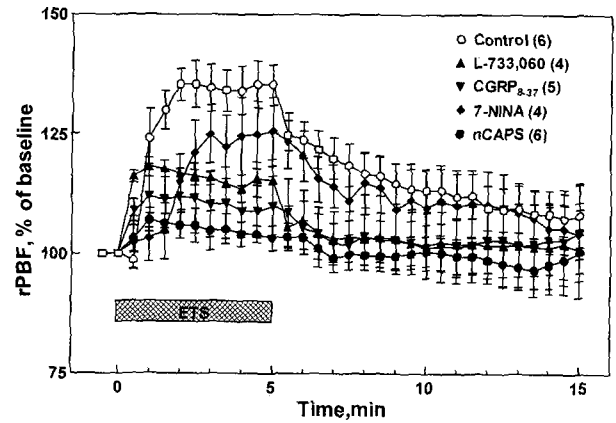


Fig. 1. Time course regional blood flow response of rat pial artery (rPBF) following electrical stimulation of right trigeminal ganglion (ETS; 3 V, 5 ms, 5 Hz, 5 min). ETS-induced rPBF response was significantly attenuated not only by pretreatment with L-733,060, CGRP₈₋₃₇ or 7-nitroindazole monosodium salt (7-NINA) but also by neonatal capsaicin treatment. L-733,060, superfusion with 0.1 μ M L-733,060 30 min before, during and after ETS. CGRP₈₋₃₇, superfusion with 1 μ M CGRP₈₋₃₇ 30 min before, during and after ETS. 7-NINA, intraperitoneal administration of 7-NINA 25 mg/kg 30 min before ETS. nCAPS, capsaicin (50 mg/kg, s.c.) treatment within the first 24 hours after birth. Numbers in parentheses represent the number of animals.

Software Inc., San Diego, CA, USA)을 사용하여 분산분석법으로 분석한 후 각 군 사이의 유의성 검정을 위하여 Dunnett의 다중비교법을 사용하였다. P 값이 0.05 미만인 것을 유의하다고 판정하였다.

결 과

1. 삼차신경절 전기자극에 의한 뇌연막동맥혈류 변동

두개창이 설치된 동측의 삼차신경절을 5 분간 전기자극 (3 V, 5 ms, 5 Hz)하였을 때 뇌연막동맥의 국소 혈류는 전기자극 즉시 일시적으로 감소하였다가 곧 빠른 속도로 원저한 증가 반응을 나타내었고, 전기자극을 마친 후에는 서서히 기저치 수준으로 회복되었다 (Fig. 1). 삼차신경절 전기자극에 의하여 초래된 뇌연막동맥의 국소 혈류 반응은 NK₁ 수용체 차단제인 L-733,060 (0.1 μ M, $P < 0.01$), CGRP₁ 수용체 차단제인 CGRP₈₋₃₇ (1 μ M, $P < 0.01$), 신경세포성 NO 합성효소 억제제인 7-NINA (25 mg/kg, i.p., $P < 0.01$) 전처리, 그리고 신생기 capsaicin 처치 ($P < 0.01$)에 의하여 유의하게 감소되었다 ($F_{(3,127)} = 30.12$, $P < 0.0001$).

2. 두개창 내 capsaicin 국소 투여에 의한 뇌연막동맥혈류 변동

두개창 내로 국소 투여한 capsaicin (10 μ M)은 투여 즉시 뇌연막동맥의 국소 혈류를 일시적으로 감소시켰다가 곧 빠

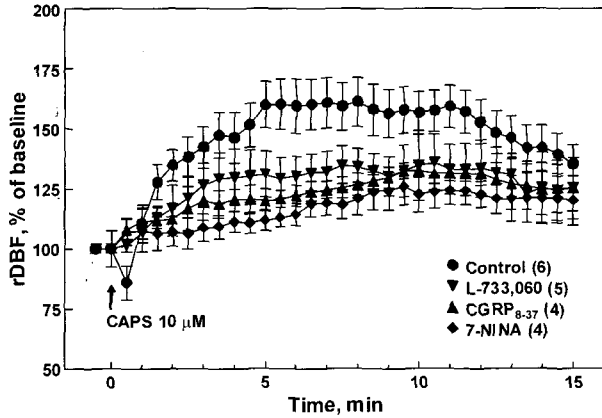


Fig. 2. Time course regional blood flow response of rat dural artery (rDBF) to capsaicin (CAPS, 10 μ M) superfused into the cranial window. CAPS-induced rDBF response was significantly attenuated not only by pretreatment with L-733,060 or CGRP₈₋₃₇ but also by pretreatment with 7-NINA.

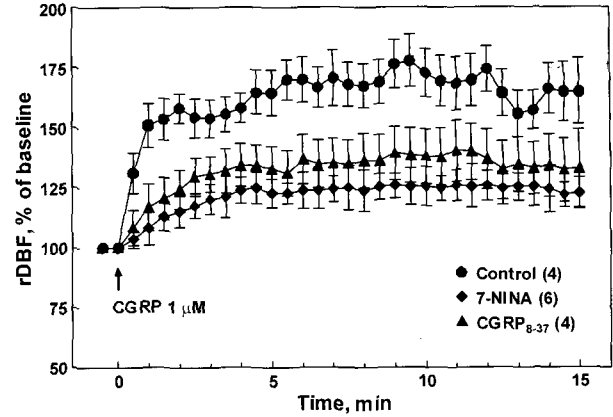


Fig. 4. rDBF response to CGRP (1 μ M) superfused into the cranial window. CGRP-induced increase in rDBF response was significantly attenuated not only by pretreatment with CGRP₈₋₃₇ but also by pretreatment with 7-NINA.

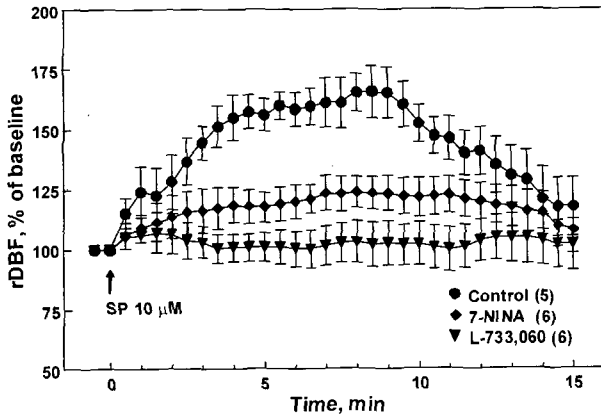


Fig. 3. rDBF response to substance P (SP, 10 μ M) superfused into the cranial window. SP-induced increase in rDBF response was significantly attenuated not only by pretreatment with L-733,060 but also by pretreatment with 7-NINA.

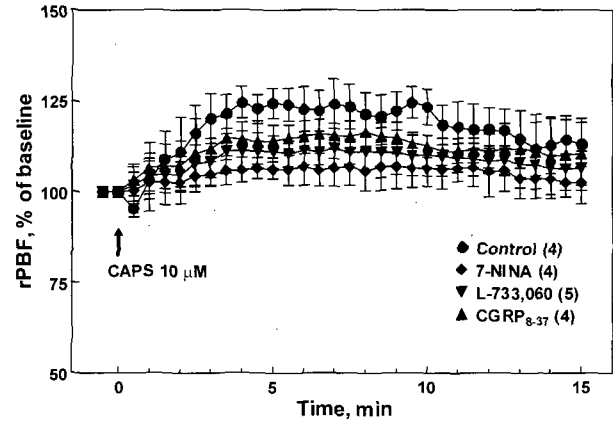


Fig. 5. rPBF response to capsaicin (CAPS, 10 μ M) superfused into the cranial window. CAPS-induced increase in rPBF response was significantly attenuated not only by pretreatment with L-733,060 or CGRP₈₋₃₇ but also by pretreatment with 7-NINA.

른 속도로 현저히 증가시켰다 (Fig. 2). Capsaicin 국소 투여에 의하여 초래된 뇌경막동맥의 국소 혈류 반응은 L-733,060 (0.1 μ M, $P < 0.01$), CGRP₈₋₃₇ (1 μ M, $P < 0.01$) 및 7-NINA (25 mg/kg, i.p., $P < 0.01$) 전처치에 의하여 현저히 약화되었다 ($F_{(3,127)} = 30.12, P < 0.0001$).

3. 두개창 내 substance P 국소 투여에 의한 뇌경막동맥혈류 변동

두개창 내로 국소 투여한 substance P (10 μ M)는 뇌경막동맥의 국소 혈류를 현저히 증가시켰다 (Fig. 3). Substance P 국소 투여에 의하여 초래된 뇌경막동맥의 국소 혈류 반응은 L-733,060 (0.1 μ M, $P < 0.01$) 전처치 뿐만 아니라 7-NINA (25 mg/kg, i.p., $P < 0.01$) 전처치에 의하여 현저히 약화되었다

($F_{(2,95)} = 88.38, P < 0.0001$).

4. 두개창 내 CGRP 국소 투여에 의한 뇌경막동맥혈류 변동

두개창 내로 국소 투여한 CGRP (1 μ M)는 뇌경막동맥의 국소 혈류를 현저히 증가시켰다 (Fig. 4). CGRP 국소 투여에 의하여 초래된 뇌경막동맥의 국소 혈류 반응은 CGRP₈₋₃₇ (1 μ M, $P < 0.01$) 전처치 및 7-NINA (25 mg/kg, i.p., $P < 0.01$) 전처치에 의하여 현저히 약화되었다 ($F_{(2,95)} = 80.01, P < 0.0001$).

5. 두개창 내 capsaicin 국소 투여에 의한 뇌연막동맥혈류 변동

두개창 내로 국소 투여한 capsaicin (10 μ M)은 투여 즉시

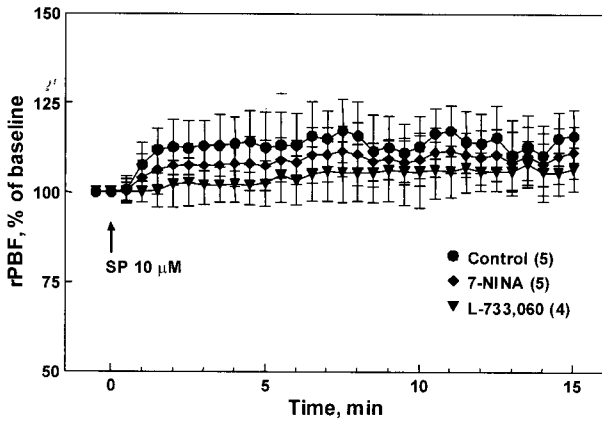


Fig. 6. rPBF response to substance P (SP, 10 μ M) superfused into the cranial window. SP-induced increase in rPBF response was significantly attenuated not only by pretreatment with L-733,060 but also by pretreatment with 7-NINA.

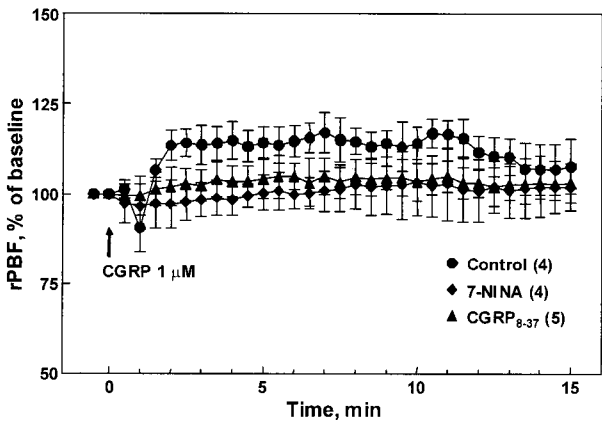


Fig. 7. rPBF response to CGRP (1 μ M) superfused into the cranial window. CGRP-induced increase in rPBF response was significantly attenuated not only by pretreatment with CGRP₈₋₃₇ but also by pretreatment with 7-NINA.

뇌경막동맥의 국소 혈류를 일시적으로 감소시켰다가 곧 빠른 속도로 현저히 증가시켰다 (Fig. 5). Capsaicin 국소 투여에 의하여 초래된 뇌경막동맥의 국소 혈류 반응은 L-733,060 (0.1 μ M, $P < 0.01$), CGRP₈₋₃₇ (1 μ M, $P < 0.01$) 및 7-NINA (25 mg/kg, i.p., $P < 0.01$) 전처치에 의하여 현저히 약화되었다 ($F_{(3,127)} = 33.34$, $P < 0.0001$).

6. 두개창 내 substance P 국소 투여에 의한 뇌연막동맥혈류 변동

두개창 내로 국소 투여한 substance P (10 μ M)는 뇌연막동맥의 국소 혈류를 증가시켰다 (Fig. 6). Substance P 국소 투여에 의하여 초래된 뇌연막동맥의 국소 혈류 반응은 L-733,060 (0.1 μ M, $P < 0.01$) 전처치 뿐만 아니라 7-NINA (25 mg/kg, i.p.,

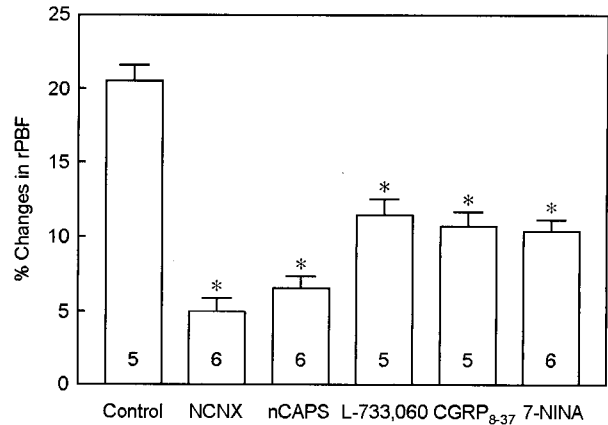


Fig. 8. Changes in rPBF response to whisker stimulation. rPBF response to whisker stimulation was significantly attenuated not only by trigeminovascular system injury including nasociliary nerve denervation (NCNX) and neonatal capsaicin treatment (nCAPS) but also by pretreatment with L-733,060, CGRP₈₋₃₇ or 7-NINA. Numbers in columns indicate the number of animals. * $P < 0.01$ compared with control group.

$P < 0.01$) 전처치에 의하여 유의하게 약화되었다 ($F_{(2,95)} = 44.73$, $P < 0.0001$).

7. 두개창 내 CGRP 국소 투여에 의한 뇌연막동맥혈류 변동

두개창 내로 국소 투여한 CGRP (1 μ M)는 뇌연막동맥의 국소 혈류를 증가시켰다 (Fig. 7). CGRP 국소 투여에 의하여 초래된 뇌연막동맥의 국소 혈류 반응은 CGRP₈₋₃₇ (1 μ M, $P < 0.01$) 전처치 뿐만 아니라 7-NINA (25 mg/kg, i.p., $P < 0.01$) 전처치에 의하여 유의하게 약화되었다 ($F_{(2,95)} = 68.17$, $P < 0.0001$).

8. 몸감각 자극에 대한 뇌연막동맥혈류 반응

삼차신경혈관계를 흥분시키는 몸감각 자극에 대한 뇌연막동맥의 국소 뇌혈류량의 변화를 관찰하였다 (Fig. 8). 대조군에서는 몸감각 자극에 반응하여 국소 뇌혈류량이 $20.56 \pm 0.95\%$ 증가하였으나, 7-NINA 전처치군 ($10.35 \pm 0.83\%$ 증가, $P < 0.01$)과 삼차신경혈관계를 손상시킨 코섬모체신경 절제군 ($5.01 \pm 0.88\%$ 증가, $P < 0.01$) 그리고 신생기 capsaicin 처치군 ($6.57 \pm 0.72\%$ 증가, $P < 0.01$)에서는 몸감각 자극에 대한 국소 뇌혈류량 증가가 현저히 감소하였다.

고 찰

본 연구를 통하여 삼차신경혈관계의 자극은 뇌막혈류에 현저한 변동을 초래하고, 삼차신경혈관계 내의 신경펩티드 뿐만 아니라 신경세포성 NO 합성효소에서 생성되는 NO가

뇌막혈류 조절에 중요하게 관여함을 관찰하였다.

뇌삼차신경절을 자극하면 고양이 (Goadsby and Duckworth, 1987)와 사람 (Tran-Dinh et al., 1992)의 뇌혈류를 증가시킬 뿐만 아니라 쥐 (Escott et al., 1995), 기니픽 (Beattie and Connor, 1994), 고양이 (Lambert et al., 1984), 원숭이 (Goadsby et al., 1986) 및 사람 (Drummond and Lance, 1984)에서는 뇌의 (extracerebral)의 혈류도 증가시킨다고 한다. 편두통 발작시 뇌연막혈관의 관류량의 증가에 의존하여 국소 뇌혈류가 증가하는데 (Olesen et al., 1990), 이와 유사하게 대뇌경막의 관류량도 유사하게 변동할 것이라고 한다 (Kurosawa et al., 1995). 이와 같이 혈관성 두통의 통각과정에 있어서 혈류가 직접 혹은 간접적으로 관련할 것이라는 점과 혈관성 두통이 진행되는 동안의 결정적인 통각과정은 뇌경막 내에서 발생한다는 보고들 (Moskowitz et al., 1989; Moskowitz, 1990)을 감안하여 볼 때 뇌혈류보다는 뇌막혈류의 관련성이 더 클 것으로 추측된다.

들신경의 활성화에 의하여 뇌막혈류가 증가하고 이로 인하여 혈관성 두통이 발생된다고 가정할 때 그 연관성에 관여하는 화학매개체들 중에서 혈관주위 신경섬유에서 유리되는 신경펩티드인 substance P와 CGRP가 중요하게 관여한다고 주목받고 있다 (Edvinsson, 1985; Hong et al., 1994).

Substance P는 혈관 내피세포에 직접적인 영향을 미침으로써 혈관 투과성을 증가시킬 뿐만 아니라 (Ghabriel et al., 1999; Lembeck et al., 1979) 혈관 확장 작용을 매개한다고 하였고 (Onoue et al., 1994; Petersson et al., 1995; Tsutsui et al., 2000), 또한 뇌경막 내 혈관 투과성과 혈류를 증가시키며 (Faraci et al., 1989), 뇌정맥동 위로 capsaicin이나 고농도 K^+ 을 국소 투여시 정맥혈 내로의 substance P의 유리가 증가한다고 한다 (Geppetti et al., 1990). 또한 CGRP도 편두통이나 군발두통 발작이 진행되는 동안 그리고 실험적으로 쥐의 뇌막을 자극해 주는 동안에 두부정맥 유출혈액 내로 많이 유리되며 (Goadsby et al., 1988; Goadsby and Edvinsson, 1993, 1994), 생체의 실험으로 쥐의 두개강 내에 염증매개체들을 투여하거나 삼차신경절을 전기자극시 뇌경막으로부터 CGRP의 유리가 일어난다고 한다 (Ebersberger et al., 1999). 그러나 뇌막혈류 조절 기전에 있어서 삼차신경혈관계의 신경펩티드인 substance P와 CGRP가 가지고 있는 역할에 관하여는 아직 자세히 밝혀지지 않고 있다. 본 연구에서 삼차신경절 전기자극, capsaicin 및 외인성 신경펩티드의 투여에 의하여 뇌막혈류가 현저히 증가함을 관찰하였고, 이러한 삼차신경혈관계의 자극에 의한 뇌막혈류 반응은 모두 각 신경펩티드의 수용체 차단제의 전처치에 의하여 유의하게 억제되었다. 이러한 사실은 뇌막혈류의 조절에 있어서 삼차신경혈관계의 신경펩티드가 매우 중요하게 관여하고 있음을 시사한다.

Capsaicin은 말초신경 말단에서 신경펩티드의 유리를 증가

시키지만 (Holzer, 1991; Stretton et al., 1992), 출생 24 시간 이내의 신생기에 전신 투여하면 말초의 일차민말이집각각신경 섬유 의 약 90%에서 선택적이면서도 영구적으로 변성이 일어나고 (Nagy et al., 1981; Hammond and Ruda, 1989), 성장 후 신경세포 내 신경펩티드의 양이 현저히 고갈된다고 알려져 있다 (Gamse et al., 1980; Hammond and Ruda, 1989). 본 연구에서 신생기에 capsaicin을 처치한 실험동물에서 삼차신경절 전기자극이나 몸감각 자극에 대한 뇌막혈류 반응이 현저히 억제 또는 거의 소실된 결과는 뇌막동맥의 이완 반응에 필요로 하는 신경펩티드가 신생기 capsaicin 처치에 의하여 거의 고갈되었기 때문이며, 뇌막혈류 조절 기전에 있어서 삼차신경혈관계의 신경펩티드가 깊이 관여한다는 것을 더욱 뒷받침해 주는 것으로 생각된다.

뿐만 아니라 코섬모체신경을 절제한 실험동물에서도 몸감각 자극에 대한 뇌연막동맥의 혈류 반응이 현저히 억제되었다. 이러한 사실은 코섬모체신경을 통한 삼차신경성 뇌혈류 조절 기전이 정상적인 뇌혈류 조절에 깊이 관여한다는 것을 시사한다. 그러나 코섬모체신경이 절제되었다고 해서 뇌연막동맥혈류 반응이 완전히 소실되지는 아니하였다. 이는 Suzuki et al. (1989)이 코섬모체신경 절제 후 Willis환과 그 분지의 전반부에서는 신경펩티드성 신경섬유들이 소실되었지만, Willis환의 후반부와 뇌저동맥의 전방 2/3 부분에서는 신경펩티드성 신경섬유들의 수가 어느 정도는 존재하였고, 뇌저동맥의 미측 1/3 부분, 척추동맥 그리고 내저동맥에서는 영향을 받지 아니하였다고 한 보고로써 설명이 가능하다.

한편, NO는 정상적인 뇌순환 조절 기능을 유지하는데 있어서 뿐만 아니라 편두통을 비롯한 혈관성 두통에 있어서도 매우 중요한 역할을 한다고 알려져 있다 (Iversen et al., 1989; Olesen et al., 1993; Thomsen et al., 1993; Olesen et al., 1994, 1995). 뇌혈관주위에 분포하는 신경섬유는 뇌동맥의 외층과 중층의 경계 부위에 위치해 있으면서 신경세포성 NO 합성 효소를 가지고 있고 (Bredt et al., 1990), 주로 나비입천장신경절 (sphenopalatine ganglion)에서 기시하여 (Iadecola et al., 1993; Nozaki et al., 1993) 사골공을 통과하는 안신경분지의 코섬모체신경이며, 일부는 귀신경절 (otic ganglion) 및 속목동맥소신경절 (internal carotid miniganglion)에서 기시한다고 알려져 있다 (Suzuki et al., 1989, 1993). Morita-Tsuzuki et al. (1993)의 보고에 의하면 나비입천장신경절을 전기자극하면 새겔질 (neocortex) 부위의 뇌혈류가 증가하는데 이러한 반응은 NO 합성효소를 억제시킴으로써 감소되었다고 한다. 이러한 보고들은 뇌혈관주위 신경섬유의 흥분에 의하여 유리되는 NO는 혈관 평활근에 작용하여 혈관 확장을 일으킨다는 것을 강력히 시사해 준다.

본 연구에서 삼차신경절 전기자극, capsaicin 및 외인성 신경펩티드, 그리고 몸감각 자극 등에 대한 뇌막혈류 반응이

신경세포성 NO 합성효소 억제제인 7-NINA 전처치에 의하여 현저히 감소 또는 거의 소실되었다는 사실은 매우 흥미있는 결과이다. 이러한 결과는 본 연구에서 비록 뇌막혈관 내 NO 합성효소의 활성도와 cyclic GMP 양을 직접 측정해 보지는 아니하였지만, 정상적인 뇌막혈관의 운동성과 뇌막혈류의 조절 기전에 삼차신경혈관계가 중요하게 관여하며, 여기에 존재하는 NO-cyclic GMP 경로가 뇌막혈관 확장 반응을 매개한 것으로 시사한다. 나아가 삼차신경혈관계의 기능이 정상적으로 발휘되려면 삼차신경계 내에 NO 합성효소가 정상 수준으로 존재하여야 하고 그 활성도도 정상적이어야 한다는 것을 강조하는 것으로 생각된다. 그러나 본 연구의 결과만으로는 확실히 알 수 없고 더 깊이 있는 연구를 해 보아야 할 과제로 남는다.

신경펩티드와 NO 사이의 상호작용에 관하여 Petersson et al. (1995)의 보고에 의하면 substance P는 내피세포-의존성 NO의 생성을 증가시키고 혈관 평활근에 과다분극을 일으킴으로써 사람의 뇌혈관을 이완시킨다고 하였고, Wei et al. (1992)은 NO 공여 약물에 의한 뇌혈류 증가 반응이 삼차신경 구심로 차단이나 CGRP 수용체 차단제 투여에 의하여 약화되었다고 하며, Strecker et al. (2002)은 NO는 직접적인 혈관확장 작용에 의하여 뿐만 아니라 혈관주위 들신경섬유에서 CGRP의 유리를 증가시킨다고 보고하였다.

본 연구에서 뇌연막동맥의 확장을 야기시키는 생리적 자극으로서 몸감각 자극에 대한 국소 뇌혈류의 반응을 뇌연막동맥의 혈류 변동으로 관찰하였다. 즉, 삼차신경이 분포하는 안면의 구레나룻을 기계적으로 자극시키면서 이때 나타나는 국소 뇌혈류량의 변동을 관찰하였다. 정상적인 신경 활성도를 가지고 있는 개체에서는 몸감각 자극에 반응하여 뇌연막동맥의 직경이 증가하고 국소 뇌혈류량도 증가한다고 한다 (Cox et al., 1993; Ngai et al., 1995). 본 연구의 결과에서 본 바와 같이 신경세포성 NO 합성효소 억제제인 7-NINA를 전처치한 군과 코섬모체신경을 절제하거나 신생기 때 capsaicin을 처치함으로써 삼차신경혈관계를 손상시킨 군 모두에서 몸감각 자극에 대한 뇌혈류 증가 반응이 유의하게 감소되었다. 이러한 결과는 Ayata et al. (1996)이 뇌대사와 뇌혈류간의 연결에 있어서 NO 합성효소의 여러 아형 중 신경세포성 NO 합성효소가 주된 조절자라고 한 보고나 Bonvento et al. (2000)이 신경활동 증가에 의한 뇌혈류 증가 반응에는 신경세포성 NO 합성효소가 필수적인 역할을 한다고 한 보고와 의견을 같이하는 바로서, 몸감각 자극에 의한 뇌막혈류 반응은 정상적으로 삼차신경혈관계를 경유하여 반응을 나타내게 되는데 이때 혈관주위 신경섬유에서의 신경펩티드의 유리와 신경세포성 NO 합성효소의 활성화에 의하여 생성된 NO가 깊이 관여하는 것으로 생각된다.

이상을 종합하여 보면 삼차신경혈관계의 자극은 뇌막혈

류에 현저한 변동을 초래하고, 삼차신경혈관계 내의 신경펩티드 뿐만 아니라 NO가 뇌막혈류 조절 기전에 중요하게 관여하는 것으로 생각된다.

REFERENCES

- Andres KH, von Düring M, Muszynski K, Schmidt RF. Nerve fibres and their terminals of the dura mater encephali of the rat. *Anat Embryol (Berl)*. 1987. 175: 289-301.
- Ayata C, Ma J, Meng W, Huang P, Moskowitz MA. L-NA-sensitive rCBF augmentation during vibrissal stimulation in type III nitric oxide synthase mutant mice. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1996. 16: 539-541
- Beattie DT, Connor HE. The influence of the trigeminal ganglion on carotid blood flow in anaesthetized guinea-pigs. *Br J Pharmacol*. 1994. 112: 262-266.
- Bednarczyk EM, Remler B, Weikart C, Nelson AD, Reed RC. Global cerebral blood flow, blood volume, and oxygen metabolism in patients with migraine headache. *Neurology* 1998. 50: 1736-1740.
- Bonvento G, Cholet N, Seylaz J. Sustained attenuation of the cerebrovascular response to a 10 min whisker stimulation following neuronal nitric oxide synthase inhibition. *Neurosci Res*. 2000. 37: 163-166.
- Bredt DS, Hwang PM, Snyder SH. Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature* 1990. 347: 768-770.
- Cox SB, Woolsey TA, Rovainen CM. Localized dynamic changes in cortical blood flow with whisker stimulation corresponds to matched vascular and neuronal architecture of rat barrel. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1993. 13: 899-913.
- Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH. A novel neuronal messenger molecule: the free radical, nitric oxide. *Ann Neurol*. 1992. 32: 297-311.
- Drummond PD, Lance JW. Facial temperature in migraine, tension-vascular and tension headache. *Cephalalgia* 1984. 4: 149-158.
- Ebersberger A, Averbeck B, Messlinger K, Reeh PW. Release of substance P, calcitonin gene-related peptide and prostaglandin E₂ from rat dura mater encephali following electrical and chemical stimulation in vitro. *Neuroscience* 1999. 89: 901-907.
- Edvinsson L. Functional role of perivascular peptides in the control of cerebral circulation. *Trends Neurosci*. 1985. 8: 126-131.
- Escott KJ, Beattie DT, Connor HE, Brain SD. Trigeminal ganglion

- stimulation increases facial skin blood flow in the rat: a major role for calcitonin gene-related peptide. *Brain Res.* 1995. 669: 93-99.
- Faraci FM, Kadel KA, Heistad DD. Vascular responses of dura mater. *Am J Physiol.* 1989. 257: H157-H161.
- Gamse R, Holzer P, Lembeck F. Decrease of substance P in primary afferent neurones and impairment of neurogenic plasma extravasation by capsaicin. *Br J Pharmacol.* 1980. 68: 207-213.
- Geppetti P, Del Bianco E, Santicioli P, Lippe IT, Maggi CA, Sicuteri F. Release of sensory neuropeptides from dural venous sinuses of guinea pig. *Brain Res.* 1990. 510: 58-62.
- Goadsby PJ, Duckworth JW. Effect of stimulation of trigeminal ganglion on regional cerebral blood flow in cats. *Am J Physiol.* 1987. 253: R270-R274.
- Goadsby PJ, Edvinsson L. The trigeminovascular system and migraine: studies characterizing cerebrovascular and neuropeptide changes seen in humans and cats. *Ann Neurol.* 1993. 33: 48-56.
- Goadsby PJ, Edvinsson L. Human in vivo evidence for trigeminovascular activation in cluster headache. Neuropeptide changes and effects of acute attacks therapies. *Brain* 1994. 117: 427-434.
- Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R. Release of vasoactive peptides in the extracerebral circulation of humans and the cat during activation of the trigeminovascular system. *Ann Neurol.* 1988. 23: 193-196.
- Goadsby PJ, Lambert GA, Lance JW. Stimulation of the trigeminal ganglion increases flow in the extracerebral but not the cerebral circulation of the monkey. *Brain Res.* 1986. 381: 63-67.
- Hammond DL, Ruda MA. Developmental alterations in thermal nociceptive threshold and the distribution of immunoreactive calcitonin gene-related peptide and substance P after neonatal administration of capsaicin in the rat. *Neurosci Lett.* 1989. 97: 57-62.
- Holzer P. Capsaicin: cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacol Rev.* 1991. 43: 143-201.
- Hong KW, Pyo KM, Lee WS, Yu SS, Rhim BY. Pharmacological evidence that calcitonin gene-related peptide is implicated in cerebral autoregulation. *Am J Physiol.* 1994. 266: H11-H16.
- Iadecola C, Beitz AJ, Renno W, Xu X, Mayer B, Zhang F. Nitric oxide synthase-containing neural processes on large cerebral arteries and cerebral microvessels. *Brain Res.* 1993. 606: 148-155.
- Iversen HK, Olesen J, Tfelt-Hansen P. Intravenous nitroglycerin as an experimental model of vascular headache. Basic characteristics. *Pain* 1989. 38: 17-24
- Jancso G, Kiraly E, Jancso-Gabor A. Pharmacologically induced selective degeneration of chemosensitive primary sensory neurones. *Nature* 1977. 270: 741-743.
- Kurosawa M, Messlinger K, Pawlak M, Schmidt RF. Increase of meningeal blood flow after electrical stimulation of rat dura mater encephali: mediation by calcitonin gene-related peptide. *Br J Pharmacol.* 1995. 114: 1397-1402.
- Lambert GA, Bogduk N, Goadsby PJ, Duckworth JW, Lance JW. Decreased carotid arterial resistance in cats in response to trigeminal stimulation. *J Neurosurg.* 1984. 61: 307-315.
- Mayberg MR, Zervas NT, Moskowitz MA. Trigeminal projections to supratentorial pial and dural blood vessels in cats demonstrated by horseradish peroxidase histochemistry. *J Comp Neurol.* 1984. 223: 46-56.
- Messlinger K, Suzuki A, Pawlak M, Zehnter A, Schmidt RF. Involvement of nitric oxide in the modulation of dural arterial blood flow in the rat. *Br J Pharmacol.* 2000. 129: 1397-1404.
- Moncada S. The 1991 Ulf von Euler Lecture. The L-arginine: nitric oxide pathway. *Acta Physiol Scand.* 1992. 145: 201-227.
- Morita-Tsuzuki Y, Hardebo JE, Bouskela E. The role of nitric oxide in the cerebrovascular response to stimulation of post-ganglionic parasympathetic nerve fibers in rats. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1993. 13(Suppl 1): S171.
- Moskowitz MA. Basic mechanisms in vascular headache. *Neurol Clin.* 1990. 8: 801-815.
- Moskowitz MA. Neurogenic versus vascular mechanisms of sumatriptan and ergot alkaloids in migraine. *Trends Pharmacol Sci.* 1992. 13: 307-311.
- Moskowitz MA, Buzzi MG, Sakas DE, Linnik MD. Pain mechanisms underlying vascular headaches. *Progress Report* 1989. *Rev Neurol (Paris).* 1989. 145: 181-193.
- Nagy JI, Hunt SP, Iversen LL, Emson PC. Biochemical and anatomical observations on the degeneration of peptide-containing primary afferent neurons after neonatal capsaicin. *Neuroscience* 1981. 6: 1923-1934.
- Ngai AC, Meno JR, Winn HR. Simultaneous measurements of pial arteriolar diameter and laser-Doppler flow during somatosensory stimulation. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1995. 15: 124-127.
- Nozaki K, Moskowitz MA, Maynard KI, Koketsu N, Dawson TM, Brecht DS, Snyder SH. Possible origins and distribution

- of immunoreactive nitric oxide synthase-containing nerve fibers in cerebral arteries. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1993. 13: 70-79.
- Olesen J, Friberg L, Olsen TS, Iversen HK, Lassen NA, Andersen AR, Karle A. Timing and topography of cerebral blood flow, aura, and headache during migraine attacks. *Ann Neurol.* 1990. 28: 791-798.
- Olesen J, Iversen HK, Thomsen LL. Nitric oxide supersensitivity: a possible molecular mechanism of migraine pain. *Neuroreport* 1993. 4: 1027-1030.
- Olesen J, Thomsen LL, Iversen H. Nitric oxide is a key molecule in migraine and other vascular headaches. *Trends Pharmacol Sci.* 1994. 15: 149-53.
- Olesen J, Thomsen LL, Lassen LH, Olesen JJ. The nitric oxide hypothesis of migraine and other vascular headaches. *Cephalalgia* 1995. 15: 94-100.
- Petersson J, Zygmunt PM, Brandt L, Hogestatt ED. Substance P-induced relaxation and hyperpolarization in human cerebral arteries. *Br J Pharmacol.* 1995. 115: 889-894.
- Ray BS, Wolff HG. Experimental studies on headache. *Arch Surg.* 1940. 41: 813-855.
- Steiger HJ, Tew JM Jr, Keller JT. The sensory representation of the dura mater in the trigeminal ganglion of the cat. *Neurosci Lett.* 1982. 31: 231-236.
- Strecker T, Dux M, Messlinger K. Nitric oxide releases calcitonin-gene-related peptide from rat dura mater encephali promoting increases in meningeal blood flow. *J Vasc Res.* 2002. 39: 489-496.
- Stretton D, Belvisi MG, Barnes PJ. The effect of sensory nerve depletion on cholinergic neurotransmission in guinea pig airways. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992. 260: 1073-1080.
- Suzuki N, Fukuuchi Y, Koto A, Nagenuma Y, Isozumi K, Matsuoka S, Gotoh J, Shimizu T. Cerebrovascular NADPH diaphorase-containing nerve fibers in the rat. *Neurosci Lett.* 1993. 151: 1-3.
- Suzuki N, Hardebo JE, Kahrström J, Owman CH. Effect on cortical blood flow of electrical stimulation of trigeminal cerebrovascular nerve fibers in the rat. *Acta Physiol Scand.* 1990. 138: 307-315.
- Suzuki N, Hardebo JE, Owman C. Origins and pathways of cerebrovascular nerves storing substance P and calcitonin gene-related peptide in rat. *Neuroscience* 1989. 31: 427-438.
- Thomsen LL, Iversen HK, Brinck TA, Olesen J. Arterial supersensitivity to nitric oxide (nitroglycerin) in migraine sufferers. *Cephalalgia* 1993. 13: 395-399.
- Tran-Dinh YR, Thurel C, Cunin G, Serrie A, Seylaz J. Cerebral vasodilation after the thermocoagulation of the trigeminal ganglion in humans. *Neurosurgery* 1992. 31: 658-662.
- Wei EP, Moskowitz MA, Boccalini P, Kontos HA. Calcitonin gene-related peptide mediates nitroglycerin and sodium nitroprusside-induced vasodilation in feline cerebral arterioles. *Circ Res.* 1992. 70: 1313-1319.
- Sung SM, Kim SH, Moon IS, Kim DS, Jung DS, Park KH, Kim YK. Tc-99m HM-PAO SPECT in migraine between attacks. *J Korean Neurol Assoc.* 1997. 15: 624-633.