

원 저

만성통증이 유발된 흰쥐에서 관찰된 침진통효과의 세로토닌성 기전

박동석¹⁾, 신흥기, 이정희

경희대학교 한의과대학 침구학교실¹⁾
한양대학교 의과대학 생리학교실

Activation of Spinal Serotonergic Receptor Contributes to Electroacupuncture Analgesia in Rat with Chronic Pain

Dong-Suk Park¹⁾, Hong-Kee Shin, Kyung-Hee Lee

Department of Acupuncture and Moxibustion, College of Oriental Medicine, Kyunghee University¹⁾
Department of Physiology, College of Medicine, Hanyang University

Objectives : Electroacupuncture (EA)-induced analgesia has been known to be mediated through the activation of opioid, noradrenergic and serotonergic receptors. However, little study on serotonergic mechanism has been performed in an animal model of chronic pain. The present study was designed to elucidate the type of serotonergic receptors responsible for EA analgesia in the chronic pain model.

Methods : In rats with complete Freund's adjuvant-induced inflammation and spinal nerve injury, spinal wide dynamic range (WDR) cell responses to graded electrical stimulation of afferent C fiber were recorded before and after spinal application of selective 5-hydroxytryptamine (5-HT) receptor antagonists. EA stimulation (2Hz, 0.5msec, 3mA) was applied to the contralateral Zusanli point for 30 min.

Results : In both models of chronic pain, WDR cell responses were greatly inhibited after EA stimulation. EA-induced inhibition of WDR cell responses was significantly attenuated by spinal application of non-selective 5-HT receptor antagonist, dihydroergocristine. Of 5-HT receptor antagonists tested, 5-HT_{1A} (WAY100635) and 5-HT₂ (LY53857) receptor antagonists strongly reduced an ability of EA stimulation to inhibit WDR cell responses. However, 5-HT_{1B} (GR55562) and 5-HT₃ (LY278584) receptor antagonists also had weak but significant blocking action on EA-induced inhibitory effect on chronic pain.

Conclusions : Dorsal horn cell responses, afferent C fiber stimulation, chronic pain, electroacupuncture, serotonergic receptors.

Key Words: Dorsal horn cell responses, Afferent C fiber stimulation, Chronic pain, Electroacupuncture, Serotonergic receptors.

· 접수 : 2005년 7월 22일 · 논문심사 : 2005년 8월 24일
· 채택 : 2005년 9월 1일
· 교신저자 : 신흥기, 서울시 성동구 행당동17 한양대학교
의과대학 생리학교실
(TEL:02-2220-0612, FAX:02-2281-3603
E-mail : shinhg@hanyang.ac.kr)

* 본 연구는 2003-2004년도 보건복지부 한방치료기술 개발사업 지원 연구비에 의하여 수행되었음.(HMP-00-CO-0001)

緒 論

여러 가지 질병치료 목적으로 오랜기간동안 사용되어온 침자극법의 효과중 통증을 완화 시키는 진

통효과에 대해 많은 연구결과가 보고 되었다. 침 자극은 말초신경의 손상, 염증 및 당뇨병 등에 의해 유발된 통증과^{1,3)} 아편양물질의 반복투여에 의해 유발된 금단증상을 억제할 뿐만 아니라 수술 후 나타나는 통증을 억제하기 위한 목적으로 투여하는 아편양물질의 양을 현저하게 감소시킨다고^{4,5)} 알려져 있다. 그러나 침진통효과는 자극매개변수, 통증의 원인과 강도, 환경적요인과^{6,7)} 동물실험의 경우에는 동물의 종과 마취상태에^{2,7)} 따라 상당한 차이가 있으며, 경우에 따라서는 침자극에 의해 통증이 증가될 수도 있다.

시상하부, 뇌수도관 및 뇌실주위 회백질(periaqueductal & periventricular gray), 봉선핵(raphe nuclei), 청색반점(locus ceruleus) 및 연수망상체형성 등이 활성화되면 말초로부터 척수내로 전달된 통각신호가 억제되어 시상상으로 전달되지 못하게 하는 통각의 하행성 억제계(descending inhibitory control of pain)에 의해 침진통효과가 매개되는 것으로 알려져 있으나 침자극에 의해 생긴 입력신호를 하행성 억제계로 전달하는 구심성 신경은 $A\beta$ 및 $A\delta$ 신경이라는 주장과 C신경이라는 연구보고가 있다⁸⁾. 하행성 억제계에서 출발한 원심성 신경은 주로 동측의 배측방섬유속을 경유하여 Laminae I, II, V 및 VI에 위치한 척수후각세포, 특히 통각신호를 척수에서 시상상으로 전달한다고 알려진 척수시상로 신경세포와 시냅스를 이루고 있으며, 이와 같은 척수내 분포상은 말초로부터 척수내로 통각신호를 전달하는 일차구심성 신경의 척수내 분포상과도 일치된다^{9,10)}. 하행성 억제계가 활성화되면 원심성 신경의 종말에서 아편양물질, 노아드레날린 및 세로토닌 등의 신경매개물질이 척수내로 분비되어 통각신호를 억제하는 것으로⁸⁾ 보고 되었다. 노아드레날린 및 세로토닌성 신경섬유의 세포체는 주로 청색반점과 봉선핵에 위치하며, 특히 봉선핵에서 출발하여 척수에 분포하는 원심성 신경의 75-85%가 세로토닌성 신경이다¹¹⁾. Nucleus raphe magnus (NRM)를 포함한 봉선핵의 자극에 의해 유발된 하행성 억제효과는 척수내로 투여한 세로토닌 길항제에 의하여 차단되며¹²⁾

NRM을 자극하면 척수내 세로토닌의 합성¹³⁾과 분비⁴⁾가 증가될 뿐만 아니라 척수내로 투여한 세로토닌은 유해자극에 의해 유발된 척수후각세포의 반응과 행동으로 나타나는 통각반응을 억제하여 진통효과를 유발한다^{15,16)}. 또한 노아드레날린도 세로토닌과 유사한 기전에 의해 진통효과를 유발하는 것으로 보고 되었다. 청색반점을 포함한 하행성 억제계를 자극하면 척수내로 방출되는 노아드레날린의 양이 증가됨과 동시에 진통효과가 나타나며¹⁴⁾, 유발된 진통효과는 척수내로 투여한 yohimbine과 phentolamine에 의해 약화될 뿐만 아니라¹⁷⁾ 척수내로 $\alpha 2$ -아드레날린성 수용기의 효현제를 투여해도 진통효과가 유발된다고¹⁸⁾ 한다. 이상의 연구결과들은 하행성 억제계가 활성화되면 세로토닌 및 노아드레날린성기전에 의해 진통효과가 유발될 수 있음을 확인해 주는 증거라고 생각된다. 한편 생쥐의 정맥내로 tetrabenazine, para-chlorophenylalanine 및 α -methyl-tyrosine 등을 투여하여 monoamine을 고갈시키면 침진통효과가 감소되는 반면에 5-hydroxytryptophan과 L-DOPA를 투여한 후 monoamine 함량이 증가되면 침진통효과도 증가된다는 보고¹⁹⁾와 척수후각세포와 trigeminal nucleus caudalis의 유해자극 반응이 전침자극에 의해 억제되었으며, 유발된 억제효과는 각각 $\alpha 2$ -아드레날린성 길항제와 세로토닌 길항제의 투여에 의해 약화된다는 연구결과들^{19,20)}은 하행성 억제계가 활성화되면 진통효과가 유발된다는 보고와 깊은 상관성이 있는 것으로 생각된다.

한편, 침진통효과는 세로토닌과 노아드레날린뿐만 아니라 아편양물질에 의해서도 매개된다고 알려져 있다. 하행성 억제계의 활성화에 의해 유발된 진통효과는 척수내로 투여된 아편양물질 길항제에 의해 약화되며 전침자극 후에는 뇌척수액 내 β -endorphine의 농도와 통각역치가 증가될 뿐만 아니라 침자극의 진통효과는 아편양물질의 길항제인 naloxane 투여에 의해 차단된다^{21,22)}. 또한 만성통증이 유발된 흰쥐에서 척수후각세포의 유해자극반응은 주로 μ - 및 δ -아편양물질 수용기의 길항제의 전처치에 의해 강력하게 억제되었으며³⁾, 아편양물질 수용

기가 유전적으로 결여된 생쥐보다는 아편양물질 수용기가 과도하게 발현된 C67BL/6By계 생쥐에서 전 침자극에 의해 보다 강력한 진통효과가 유발된다²³⁾는 연구결과들은 침진통효과는 아편양물질에 의해서도 매개됨을 시사한다.

급성통증모델을 이용한 실험에서 침진통효과는 아편양물질뿐만 아니라 세로토닌과 노아드레날린 등에 의해서도 매개된다는 연구결과가 보고 되었으나 만성통증모델을 이용한 연구, 특히 만성통증을 억제하는 전침효과의 세로토닌성 기전에 대한 연구는 찾아볼 수 없었다. 본 실험에서는 신경손상과 염증에 의해 만성통증이 유발된 흰쥐에서 척수후각세포의 유해자극반응에 대한 침진통효과가 세로토닌에 의해 매개되는지를 확인하고 아울러 침진통효과를 매개하는 세로토닌 수용기의 아형을 밝히고자 한다.

材料 및 方法

건강한 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐(300- 350gm) 95마리를 사용하였으며 만성 염증성 및 신경성 통증군으로 나누어 실험하였다. 실험동물은 물과 먹이가 충분히 공급되며 약 23℃로 실내온도가 유지되고 12시간 주기로 조명이 조절되는 동물실에서 7일 이상 적응시킨 다음 실험에 사용되었다. Enflurane (3%, 중외제약) 마취 하에 흰쥐의 뒷발바닥에 complete Freund's adjuvant (CFA, Sigma)와 생리적 식염수를 1:1의 비율로 희석한 혼합액 0.2ml를 피하 주사하여 만성통증을 유발하였다. 또한 신경성 통증모델을 제작하기 위해서는 enflurane (3%) 마취 하에 제 5번 및 6번 척수신경을 3번 봉합사로 결찰한 후 절단하였다. 정상흰쥐에서 von Frey hair (Stoelting Co., U.S.A.)를 이용하여 측정된 기계적 자극역치는 26g 이상이었으나 CFA를 피하주사하거나 신경손상후 2-3주에는 기계적 자극역치가 평균 2.2g 이하로 감소되어 이질통 (allodynia)이 발생한 개체만 선택하여 침효과를 전기생리학적으로 규명하는 실험에 사용하였다. CFA의 피하주사 혹은 척수신

경손상에 의해 통각과민증이 유발된 흰쥐를 enflurane (3%)으로 마취한 후 외경정맥에 polyethylene관 (PE-60, Becton & Dickinson, U.S.A.)을 연결하였으며 수술이 완료된 후 척수후각세포의 반응을 기록하는 동안은 enflurane의 농도를 1.5%로 유지하였다. 실험동물의 호흡은 기도를 절개한 후 인공호흡기 (Harvard Apparatus, Model 683)에 연결하여 end-tidal CO₂ 농도가 3.5-4.5%가 되도록 호흡횟수와 일회호흡량을 조절하였으며 (End-tidal CO₂ analyzer, Capstar-100, IITC Inc.), 수술로 인하여 야기되는 체액의 손실을 방지하고 아울러 근육을 마비시키기 위해서는 생리적 식염수에 D-tubocurarine chloride (0.3mg/Kg/hr, Sigma)를 혼합한 용액을 외경정맥에 연결된 관을 통하여 계속 주입하였다. 실험동물의 체온은 homeothermic blanket system (Harvard Apparatus, U.S.A.)을 이용하여 일정하게 (37℃) 유지하였다. 제13흉추와 제3요추 사이의 척수와 슬와 (popliteal fossa)부위의 경골신경 및 총비골신경을 분리 노출시킨 후 말초구심성 신경의 전기자극에 의하여 활성화되는 척수후각세포의 반응을 기록하기 위한 목적으로 사용하였다. 이상의 수술이 완료된 후 실험동물을 뇌정위장치에 고정하였으며, 노출된 신경조직의 건조를 방지하기 위해서는 액체 파라핀 폴을 만들었다. 경골신경과 총비골신경의 자극에 의하여 유발된 cord dorsum potential이 최대로 기록되는 척수부위에 carbon filament 미세전극을 서서히 삽입하면서 말초구심성 신경의 자극에 의해 활성화되는 척수후각세포의 single activity를 기록한 후 수감영역에 가해진 각종 기계적 자극 (brush, pressure 및 pinch)에 대한 반응을 기준으로 하여 세포형을 결정하였다. 본 실험에서는 약한 자극과 유해자극에 모두 반응하는 wide dynamic range (WDR)세포만 사용하였다. C신경섬유를 포함한 모든 신경섬유를 활성화시킬 수 있는 강도의 자극 4개를 연속적으로 가하는 4 train stimuli (0.5msec, 50Hz)를 10번 가하였으며, 이 때 유발된 WDR 세포의 activity를 누적시켜 histogram을 작성하였다. 자극의 강도는 train stimuli를 말초구심성 신경에 가할 때 histogram상에 C신경

의 자극에 의해 유발된 활동전위가 나타나기 시작하는 역치강도(IT)의 배수로 표시하였으며, 일정한 크기의 WDR 세포반응을 유발하기 위해서는 2-5T 강도의 자극이 필요하였다. 본 실험에서는 느린 A δ 신경 및 C신경섬유의 자극에 의해 유발된 WDR세포의 반응을 통각의 지표로 사용하였다²⁾.

전침자극효과를 관찰하기 위해서는 신경손상 혹은 염증에 의해 이질통이 유발된 반대쪽 뒷다리의 족삼리(足三里)와 족삼리보다 약 5-6mm 아래쪽 측면에 약 5mm 깊이로 침을 삽입한 후 전기자극기(WPI, A300 Pulsemaster, U.S.A.)로 자극하였다. 자극 매개 변수는 C신경섬유반응을 지속적으로 억제한다고 알려진 양극형(bipolar)의 저빈도자극(2Hz)을 30분간 가하였으며 자극강도는 3mA, 자극과 지속 시간은 1msec 으로 하였다. 신경손상군 및 염증이 유발된 흰쥐에서 느린 A δ 신경 및 C신경섬유의 자극에 의해 유발된 WDR세포의 대조반응을 기록한 후 30분간 전침자극을 시행하였다.

척수후각세포의 반응은 전침자극직후 혹은 10분 후에 최대로 억제되기 때문에 이 시점에서 기록된 척수후각세포의 반응과 전침자극전에 기록된 척수후각세포의 대조반응을 비교하였다. 또한 전침자극의 억제효과가 세로토닌성 기전에 의해 유발되는지를 알아보기 위해서는 각종 세로토닌성 효현제를 척수표면에 직접 적용하기 전과 후에 기록된 전침자극의 억제효과를 비교하였다. 본 실험에서 사용한 세로토닌성 효현제는 다음과 같으며 전침자극 10분에 척수에 적용하였다 ; dihydroergocristine mesylate (200nM), methysergide maleate (150nM), LY53857 maleate (100nM), LY278584 maleate (150nM), WAY100635 (100nM), GR55562 dihydrochloride (100nM). LY53857와 LY278584 (Sigma, U.S.A.)를 제외한 다른 약물은 Tocris (U.K.) 회사에서 구입하였다. 이상의 모든 실험에서 유발된 WDR세포의 activity 변동은 preamplifier (WPI, DAM80, U.S.A.)로 증폭한 다음 window discriminator (Frederic Hear & Co, U.S.A.)로 원하는 activity만 선별하여 computer에 입력시켜 poststimulus time

histogram을 작성하였다. 유발된 반응의 크기는 세포에 따라 차이가 크기 때문에 전침자극전 대조반응의 백분율로 표시하였으며 ANOVA 및 Newman-Keuls test (SPSS10.0 program, SPSS Inc.)를 이용하여 계산한 p값이 0.05보다 작을 때 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다.

結果

본 실험에서는 만성염증 및 말초신경이 손상된 흰쥐에서 총비골신경과 경골신경을 C 신경섬유까지 활성화시킬 수 있는 강도로 자극할 때 유발된 WDR 세포의 C 신경섬유반응을 통각의 지표로 사용하였다. 말초신경에 가해진 train stimuli에 의해 유발된 WDR 세포의 C 신경섬유반응(대조반응)을 기록한 후 (Fig 1A) 30분간 전침자극을 시행하면 C 신경섬유반응이 유의하게 억제됨을 (Fig 1B) 알 수 있다. 전침자극이 끝난 직후 혹은 10분후에 가장 강력한 억제효과가 유발되었으며 전침자극을 시행하기 전에 기록된 WDR 세포의 대조반응에 대한 전침의 억제효과를 비교한 결과는 Fig1C와 1D에서 보는 바와 같다. 만성염증과 말초신경이 손상된 흰쥐에서 기록된 WDR 세포의 C신경섬유 반응은 전침자극을 가한 후에는 각각 대조반응의 $58.3 \pm 2.4\%$ 및 $61.8 \pm 2.6\%$ 로 유의하게 억제되었다. 또한 전침자극에 의해 유발된 억제효과와 세로토닌성 기전과의 상관성을 알아보기 위하여 비선택적 세로토닌 수용기의 길항제인 dihydroergocristine을 척수표면에 적용하기 전과 후에 기록된 전침자극의 억제효과를 비교하였다. 만성통증이 유발된 흰쥐의 WDR세포반응은 전침자극 후 대조반응의 $58.3 \pm 2.4\%$ 로 억제되었으나 dihydroergocristine을 전처치한 후에는 전침자극에 의해 대조반응의 $82.1 \pm 2.4\%$ 로 억제되었으므로 ($p < 0.001$) 전침자극의 억제효과가 유의하게 약화되었음을 알 수 있다(Fig 1C). 말초신경이 손상된 신경성 모델 흰쥐에서도 염증성 모델에서와 유사한 결과를 얻었다(Fig 1D). 전침자극에 의해 대조반응의 $61.8 \pm 2.6\%$ 로 억제된 WDR세포의 C신경섬유 반응

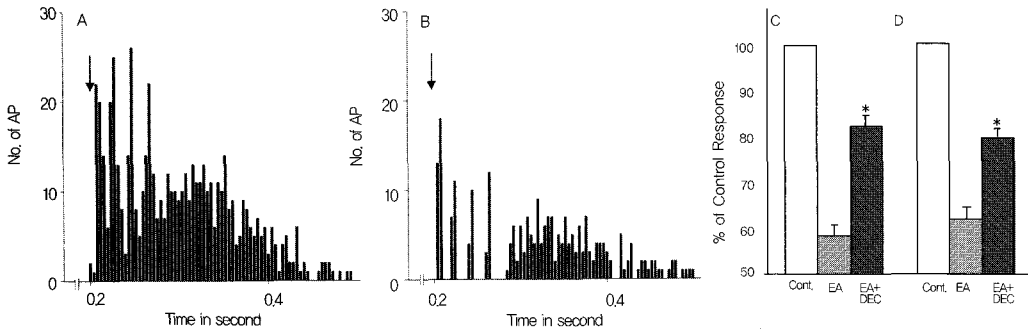


Fig. 1. Examples of wide dynamic range (WDR) cell responses recorded in the rat with chronic inflammation and comparison of the inhibition of WDR responses induced by electroacupuncture (EA) stimulation applied to Zusanli point located on the hind leg contralateral to inflammation site. Arrows indicate the time when train stimuli were applied to afferent fibers. NO. of AP is the number of action potentials induced by an electrical stimulation of afferent fibers. A is the control responses of WDR cell to afferent fiber stimulation. EA stimulation suppressed WDR cell responses to afferent fiber stimulation (B). An ability of EA to inhibit C fiber responses of WDR cells was significantly attenuated by the spinal application of dihydroergocristine (DEC) in the rat with chronic inflammation (C) and nerve injury (D). *: $p < 0.001$, significant difference from EA-induced inhibition of WDR cell responses.

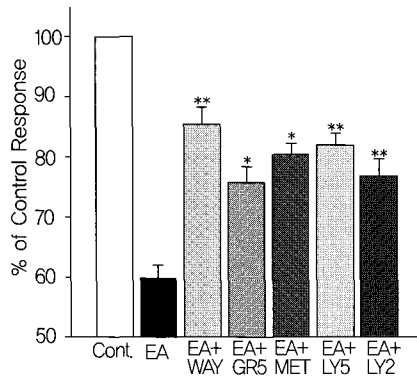


Fig. 2. Electroacupuncture (EA)-induced inhibition of WDR cell responses to electrical stimulation of afferent fibers were significantly attenuated by the spinal application of 5-HT_{1A} (WAY100635, WAY), 5-HT_{1B} GR55562, GR5), 5-HT_{1/2} (methysergide, MET), 5-HT₂ (LY53857, LY5) and 5-HT₃ (LY278584, LY2) serotonin receptor antagonists in the rat with inflammation. *: $p < 0.005$, **: $p < 0.001$, significant difference from EA-induced inhibition of WDR cell responses.

은 dihydroergocristine을 전처치한 후에는 대조반응의 $79.4 \pm 2.0\%$ 로 억제됨으로 ($p < 0.001$) 보아 염증성 및 신경성 모델 흰쥐에서 전침자극에 의해 유발된 억제효과는 세로토닌성 기전에 의해 매개됨을 알 수 있다.

전침자극에 의해 유발된 억제효과에 관여하는 세

로토닌 수용기의 아형을 구명하기 위하여 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1/2}, 5-HT₂ 및 5-HT₃ 세로토닌 수용기에 선택적으로 작용하는 길항제를 척수표면에 적용하기 전과 후에 기록된 전침자극의 억제효과를 비교하였다. 먼저 만성염증이 유발된 흰쥐에서 30분간 전침자극을 시행한 후에는 WDR세포의 C신경섬유반응

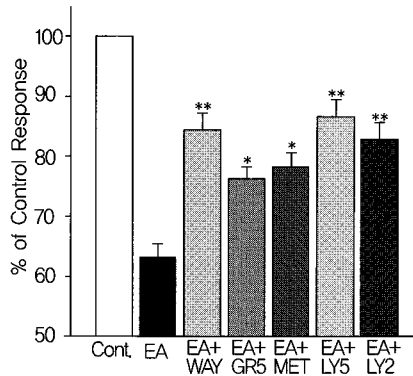


Fig. 3. Spinal application of serotonin receptor antagonists significantly reduced an ability of electroacupuncture (EA)-induced inhibition of WDR cell responses to electrical stimulation of afferent fibers in the rat with nerve injury. Types of serotonin receptor antagonists applied to spinal cord were WAY100635 (WAY), GR55562 (GR5), methysergide (MET), LY53857 (LY5), and LY278584 (LY2). *: $p < 0.002$, **: $p < 0.001$, significant difference from EA-induced inhibition of WDR cell responses.

은 $59.7 \pm 2.0\%$ 로 억제되었으나 5-HT₁ 및 5-HT₂ 세로토닌 수용기에 비선택적으로 작용하는 methysergide를 척수표면에 적용한 후에는 WDR 세포의 반응이 대조반응의 $80.2 \pm 1.9\%$ 로 억제되었다 ($p < 0.001$, Fig 2). 전침자극의 억제효과에 관여하는 5-HT₁ 및 5-HT₂ 세로토닌 수용기의 역할을 좀 더 정확히 알아보기 위하여 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} 및 5-HT₂ 세로토닌 수용기에 선택적으로 작용하는 길항제를 각각 투여해 본 바, 5-HT_{1A} (WAY100635) 및 5-HT₂ (LY53857) 세로토닌 수용기의 길항제 투여에 의해서는 전침자극의 억제효과가 각각 대조반응의 $85.2 \pm 3.2\%$ ($p < 0.001$) 및 $81.8 \pm 2.1\%$ 로 ($p < 0.001$) 크게 약화되었다. 그러나 5-HT_{1B} 세로토닌 수용기의 길항제인 GR55562를 투여한 후에는 전침자극의 억제효과 ($75.6 \pm 2.7\%$)가 5-HT_{1A} 수용기의 길항제의 효과보다 강력하지는 않으나 유의하게 ($p < 0.005$) 약화되었다. 또한 만성염증이 유발된 흰쥐에서 전침의 억제효과에 미치는 5-HT₃ 세로토닌 수용기의 역할을 알아보기 위하여 5-HT₃ 세로토닌 수용기에 선택적으로 작용하는 길항제인 LY278584를 척수표면에 적용하기 전과 후에 기록된 전침자극의 억제효과를 비교한 결과에 의하면 WDR세포의 C신경섬유반응에 대한 전침의 억제효과는 LY278584의 전처치에

의해 강력하지는 않으나 유의하게 억제됨을 ($76.6 \pm 3.2\%$, $p < 0.005$) 알 수 있다(Fig 2).

말초신경의 손상으로 만성통증이 유발된 신경성 모델에서도 전침자극의 억제효과는 세로토닌 수용기의 길항제 투여에 의해 만성 염증모델에서와 유사한 정도로 약화되었다. 신경성 모델에서 기록된 WDR세포의 C신경섬유반응은 전침자극에 의해 대조반응의 $63.2 \pm 2.2\%$ 로 억제되었으나, 5-HT_{1A} 및 5-HT₂ 세로토닌 수용기의 길항제를 투여하면 전침자극의 억제효과가 크게 약화되어 각각 대조반응의 $84.4 \pm 2.9\%$ ($p < 0.001$) 및 $86.5 \pm 3.0\%$ 로 ($p < 0.001$) 억제되었다. 또한 염증성 모델에서처럼 신경성 모델에서도 전침자극에 의해 억제효과가 유발되는 과정에서 5-HT_{1B} 세로토닌 수용기의 역할이 가장 미약하였으며 5-HT_{1B} 및 5-HT₃ 세로토닌 수용기의 길항제를 척수표면에 적용한 후에 시행한 전침자극에 의해 WDR 세포의 반응은 각각 대조반응의 $76.2 \pm 2.1\%$ ($p < 0.002$) 및 $82.8 \pm 2.9\%$ 로 ($p < 0.001$) 억제되었다.

考 察

만성통증이 유발된 흰쥐에서 저빈도-고강도의 전침자극에 의해 WDR세포의 유해자극반응이 억제되

는 진통효과가 유발되었으며, 척수내로 투여한 세로토닌수용기 길항제의 효과에는 차이가 있으나 5-HT₁, 5-HT₂ 및 5-HT₃ 세로토닌 수용기의 길항제를 투여한 후에는 전침자극에 의해 유발된 진통효과가 약화된 본 실험의 결과는 여러 가지 세로토닌 수용기의 복합작용에 의해 전침의 억제효과가 매개됨을 시사한다. 한편 투여한 길항제중 5-HT_{1B} 및 5-HT₃ 세로토닌 수용기의 길항제보다는 5-HT_{1A} 및 5-HT₂ 세로토닌 수용기 길항제의 효과가 비교적 강력하였다.

시상하부, 뇌수도관주위회백질, 봉선핵 및 그물거대핵세포(nucleus reticularis gigantocellularis)등을 포함한 하행성억제계를 파괴하거나, 이들 하행성억제계에서 출발한 후 척수에 분포하는 원심성 신경이 통과하는 등의측섬유속 (dorsolateral funiculus)을 절단하면 침진통효과가 유발되지 않는다⁸⁾. 또한 이들 하행성 억제계의 활성화에 의해 유발된 진통효과는 naloxone, phentolamine, yohimbine 및 methysergide의 투여에 의해 차단된다는 등의 보고^{8,12,17)}는 침자극에 의해 생성된 구심성 입력에 의해 통각의 하행성 억제계가 활성화되면 통각신호가 척수로부터 시상으로 전달되지 못하고 차단되어 진통효과가 유발된다는 견해와 하행성 억제계에 의해 유발된 통각억제효과를 매개하는 신경전달물질은 아편양물질, 노아드레날린 및 세로토닌이라는 주장을 뒷받침해주는 실험적 증거라고 생각된다. 통각의 하행성 억제계에 의해 유발된 진통효과는 세로토닌성 기전과 매우 밀접한 연관성이 있다는 많은 연구결과가 보고되었다. 척수내로 세로토닌 수용기의 효현제를 투여하면 유해자극에 의해 유발된 척수후각세포의 반응과 행동으로 나타나는 통각반응이 억제되어 진통효과가 유발될 뿐만 아니라^{15,16)} 하행성억제계에 전기적 자극을 가하거나 모르핀과 glutamate를 주입하여도 척수시상신경세포(spinothalamic tract cell)의 유해자극 반응을 포함한 각종 통각반응이 억제되며, 이때 유발된 진통효과는 척수내로 투여한 세로토닌 수용기의 길항제에 의하여 차단된다¹²⁾. 또한 봉선핵을 포함한 하행성 억제계가 활성화되면 척수내로 분비되는 세로토닌의 양과 함성양이 증가하지만^{13,14)}

봉선핵이 파괴되면 그 정도에 비례하여 substantia gelatinosa내 세로토닌 함량이 감소된다²⁴⁾고 한다. Horseradish peroxidase를 이용하여 세로토닌성 신경세포의 분포를 확인하는 면역세포화학법을 시행한 실험에 의하면 봉선핵에서 출발하여 척수에 분포하는 원심성신경의 75-85%가 세로토닌성 신경섬유라고¹¹⁾ 한다. 이들 세로토닌성 신경섬유의 종말은 척수의 Laminae I, II, V 및 VI에 분포하며 유해자극을 시상으로 전달하는 척수시상신경세포와 시냅스를 형성할 뿐만 아니라^{9,10)} 세로토닌성 하행성 신경섬유와 말초로부터 척수내로 통각신호를 전달하는 일차구심성 신경의 척수내 분포상이 동일하다.

한편 급성통증모델을 이용한 실험에서 parachlorophenylalanine을 전처치하여 세로토닌을 고갈시키면 침진통효과가 감소되는 반면에 disulfiram과 probenecid를 투여한 후 세로토닌 함량이 증가된 상태에서는 침진통효과가 증가된다는 연구결과¹⁹⁾는 침진통효과가 세로토닌성 기전에 의해 매개될 수 있음을 시사한다. 또한 치수의 전기자극에 의해 유발된 꼬리쪽 삼차신경핵 (trigeminal nucleus caudalis)의 반응에 미치는 전침자극의 효과를 관찰한 실험에서 5-HT_{1B}, 5-HT_{1/2}, 및 5-HT₃ 세로토닌 수용기의 길항제 투여에 의해서는 전침의 억제효과가 약화되었으나, 5-HT_{1A} 및 5-HT_{2A} 세로토닌 수용기는 autoreceptor로 작용하기 때문에 이들 수용기가 길항제 투여에 의해 억제되면 전침의 억제효과가 증가된다고 주장한 Takagi 및 Yonehara (1998)의 연구보고²⁰⁾는 만성통증모델을 이용한 실험에서 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT₂ 및 5-HT₃ 세로토닌 수용기의 길항제 투여에 의해 척수후각세포의 유해자극반응을 억제하는 전침의 효과가 약화된 본 실험의 결과와 대체적으로 일치되는 것으로 생각된다.

발바닥에 주사된 carrageenan에 의해 염증이 유발된 흰쥐의 척수후각내 세로토닌함량이 증가되었으며, 증가된 세로토닌은 뇌실내로 투여한 naloxone에 의해서는 감소되지만 bicuculine 투여에 의해서는 오히려 증가된다는 연구결과²⁴⁾와 말초신경 손상후 7일에 척수후각내 노아드레날린과 세로토닌 농도뿐만

아니라 GABA 함량까지 증가된다는 보고²⁵⁾는 염증과 말초신경손상에 의해 만성통증이 유발되면 하행성 억제계가 활성화되어 척수내로 분비되는 세로토닌의 양이 증가됨을 암시한다. Nucleus prepositus hypoglossi와 감각성 삼차신경핵 표본에서 세포내 기록법으로 기록한 막전위에 미치는 세로토닌 및 5-HT_{1A} 세로토닌 수용기의 효현제의 효과를 관찰한 실험에서 세로토닌 및 그 효현제는 농도의존적인 과분극과 외향성 전류를 유발하였으며 유발된 외향성 전류는 K⁺의 평형전압과 유사하였다^{26,27)}. 또한 세로토닌에 의해 유발된 과분극은 5-HT_{1A} 세로토닌 수용기의 길항제와 glycine 길항제인 strychnine 투여에 의해 차단되었다^{26,27)}. 한편 Katayama 등 (1997)과 Jeong 등 (2001)등은 각각 봉선핵 세포와 뇌수도관 주위 회백질 세포에 세로토닌을 투여하면 G-protein에 매개되며, K⁺평형전압과 동일한 inwardly rectifying K⁺current가 유발됨을 관찰하였다^{28,29)}. Nucleus raphe magnus의 자극에 의해 척수내로 방출되는 세로토닌의 양이 증가되며¹⁴⁾ 척수시상으로 신경에서 과분극이 유발된다는³⁰⁾ 연구결과와 세로토닌 투여에 의해 capsaicin에 민감하게 반응하는 후근신경절세포에서 과분극이 유발되며³¹⁾ 일차구심성신경의 중추단의 자극역치가 증가된다는³²⁾ 연구결과는 하행성 억제계의 원심성 신경의 말단에서 척수내로 분비된 세로토닌은 K⁺전도도의 증가에 의한 과분극을 유발하여 신경세포의 흥분성을 감소시키고 통각신호가 전달되지 못하게 억제하는 효과를 유발한다는 주장을 뒷받침해 주는 증거라고 생각된다.

또한 자극역치가 높고 capsaicin에 민감하게 반응하는 후근신경절세포에서 기록한 칼슘전류는 세로토닌투여에 의해 억제되며, 세로토닌의 억제효과는 5-HT_{1A} 세로토닌 수용기의 길항제인 NAN-190의 투여에 의해 차단된다고^{33,34)} 한다. 전침자극은 척수내로 방출되는 세로토닌의 양을 증가시킬 뿐만 아니라 구심성 신경의 자극에 의해 척수내로 방출되는 substance P의 양도 크게 감소시킨다는^{35,36)} 연구결과는 신경세포의 흥분성과 칼슘전류를 억제하는 세로토닌의 작용과 일치된다.

이상의 연구결과를 종합해보면 전침자극에 의해 하행성 억제계가 활성화되면 척수내로 방출되는 세로토닌의 양이 증가되며, 방출된 세로토닌은 척수 후각세포와 구심성 신경의 흥분성을 감소시키고 동시에 칼슘전류를 억제하여 구심성 신경의 중추단에서 척수내로 방출되는 신경매개 물질의 양을 감소시키므로써 통각신호가 시상으로 전달되지 못하고 억제되는 진통효과가 유발될 것으로 생각된다.

結 論

만성통증이 유발된 흰쥐의 척수후각세포 중 통증 유발에 관여한다고 알려진 WDR세포의 유해자극응이 전침자극에 의해 억제되는지를 확인하였다. 또한 전침자극에 의해 억제효과가 유발되는 기전에 관여하는 세로토닌 수용기를 밝히기 위하여 각종 세로토닌 수용기의 길항제를 투여하기 전과 후에 기록된 WDR세포 반응을 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 만성염증 및 말초신경손상에 의해 유발된 WDR세포의 통증반응은 저빈도-고강도의 전침자극에 의해 억제되었다.
2. WDR세포의 통증반응에 대한 전침의 억제효과는 비선택적 세로토닌 수용기의 길항제인 dihydroergocristine투여에 의해 유의하게 약화되었다.
3. WDR 세포의 통증반응에 대한 전침의 억제효과는 5-HT_{1A} 및 5-HT₂ 세로토닌수용기의 길항제 투여에 의해서는 강력하게 감소되었으나 5-HT_{1B} 및 5-HT₃세로토닌 수용기의 길항제 투여에 의해서도 강력하지는 않으나 유의하게 차단되었다.

이상의 연구결과로부터 전침자극의 억제효과는 정도의 차이는 있으나 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT₂ 및 5-HT₃세로토닌 수용기의 복합작용에 의해 매개됨을 알 수 있다.

參考文獻

1. Hwang BG, Min BI, Kim JH, Na HS, Park DS.

- Effect of electroacupuncture on the mechanical allodynia in the rat model of neuropathic pain. *Neurosci. Lett.* 2002;320:49-52.
2. 신흥기, 박동석, 이서은, 김진혁. 전침자극이 흰쥐 척수후각세포의 유해자극 반응에 미치는 효과의 특성. *대한침구학회지.* 2002;19:167-182.
 3. 신흥기, 이서은, 박동석. 만성통증을 억제하는 전침효과의 말초성 기전과 아편양물질수용기에 관한 연구. *대한한의학회지.* 2003;24:108-117.
 4. Abuaisha BB, Costanzi JB, Boulton AJM. Acupuncture for the treatment of chronic painful peripheral diabetic neuropathy: a long-term study. *Diabetes Res. Clin. Practice.* 1998;39:115-121.
 5. Lin J-G, Lo M-W, Wen Y-R, Hsieh C-L, Tsai S-K, Sun W-Z. The effect of high and low frequency electroacupuncture in pain after lower abdominal surgery. *Pain.* 2002;99:509-514.
 6. Romita VV, Suk A, Henry JL. Parametric studies on electroacupuncture-like stimulation in a rat model: Effects of intensity, frequency and duration of stimulation on evoked antinociception. *Brain Res. Bull.* 1997;42:289-296.
 7. Huang C, Wang Y, Han J-S, Wan Y. Characteristics of electroacupuncture-induced analgesia in mice: Variation with strain, frequency, intensity and opioid involvement. *Brain Res.* 2002;945:20-25.
 8. Takeshige C, Sato T, Mera T, Hisamitsu T, Fang J. Descending pain inhibitory system involved in acupuncture analgesia. *Brain Res. Bull.* 1992;29:617-634.
 9. Ruda MA, Coffield J, Steinbush HWM. Immunocytochemical analysis of serotonergic axon in laminae I and II of the lumbar spinal cord of the cat. *J. Neurosci.* 1982;2:1660-1671.
 10. Watkins LR, Griffin G, Leichnetz GR, Mayer DJ. Identification and somatotopic organization of nuclei projecting via the dorsolateral funiculus in rats: a retrograde tracing study using HRP slow-release gels. *Brain Res.* 1981;223:237-255.
 11. Bowker RM, Reddy VK, Fung SJ, Chan JYH, Barnes CD. Serotonergic and non-serotonergic raphe neurons projecting to the feline lumbar and cervical spinal cord: a quantitative horseradish peroxidase-immunocytochemical study. *Neurosci. Lett.* 1987;75:31-37.
 12. Hammond DL, Yaksh HL. Antagonism of stimulation-produced antinociception by intrathecal administration of methysergide or phentolamine. *Brain Res.* 1984 ;298:329-337.
 13. Bourgoin S, Oliveras JL, Bruxelle J, Hamon M, Besson JM. Electrical stimulation of the nucleus raphe magnus in the rat. Effects on 5-HT metabolism in the spinal cord. *Brain Res.* 1980;194:377-389.
 14. Hammond DL, Tyce GM, Yaksh TL. Efflux of 5-hydroxytryptamine and noradrenaline into spinal cord superfusates during stimulation of the rat medulla. *J. Physiol.* 1985;359:151-162.
 15. Nakagawa I, Omote K, Kitahata LM, Collins JG, Murata K. Serotonergic mediation of spinal analgesia and its interaction with noradrenergic systems. *Anesthesiology.* 1990;73:474-478.
 16. Crisp T, Stafinsky JL, Spanos LJ, Uram M, Perni VC, Donepudi HB. Analgesic effects of serotonin and receptor-selective serotonin agonists in the rat spinal cord. *Gen. Pharmacol.* 1991;22:247-251.
 17. Satoh M, Oku R, Akaike A. Analgesia produced by microinjection of L-glutamate into the rostralventromedial bulbar nuclei of the rat and its inhibition by intrathecal alpha-adrenergic blocking agents. *Brain Res.* 1983;261:361-364.
 18. Howe JR, Wang JY, Yaksh TL. Selective antagonism of the antinociceptive effect of intrathecally applied alpha adrenergic agonists by

- intrathecal prazosin and intrathecal yohimbine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1983;224:552-558.
19. 신흥기, 이경희, 박동석. 전침자극이 만성통증을 억제하는 아드레날린성 기전에 대한 연구. *대한한의학회지*. 2004;25:67-77.
 20. Takagi J, Yonehara N. Serotonin receptor subtypes involved in modulation of electrical acupuncture. *Jap. J. Pharmacol.* 1998;78:511-514.
 21. Pert A, Dionne R, Ng L, Bragin E, Moody TW, Pert CB. Alterations in rat central nervous system endorphins following transauricular electroacupuncture. *Brain Res.* 1981;224:83-93.
 22. Romita VV, Henry JL. Spinal μ -, δ - and κ -opioid receptors mediate intense stimulation-elicited inhibition of a nociceptive reflex in the rat. *Eur. J. Pharmacol.* 1998;357:127-138.
 23. Peets JM, Pomeranz B. CXBK mice deficient in opiate receptors show poor electroacupuncture analgesia. *Nature.* 1978;273:675-676.
 24. Zhang YQ, Gao X, Zhang LM, Wu GC. The release of serotonin in rat spinal dorsal horn and periaqueductal gray following carrageenan inflammation. *Neuroreport.* 2000;11:3539-3543.
 25. Satoh O, Omote K. Roles of monoaminergic, glycinergic and GABAergic inhibitory systems in the spinal cord in rats with peripheral mononeuropathy. *Brain Res.* 1996 ;728:27-36.
 26. Bobker DH, Williams JT. Serotonin-mediated inhibitory postsynaptic potential in guinea-pig prepositus hypoglossi and feedback inhibition by serotonin. *J. Physiol.* 1990;422:447-462.
 27. Grudt TJ, Williams JT, Travagli RA. Inhibition by 5-hydroxytryptamine and noradrenaline in substantia gelatinosa of guinea-pig spinal trigeminal nucleus. *J. Physiol.* 1995;485:113-120.
 28. Katayama J, Yakushiji T, Akaike N. Characterization of the K^+ current mediated by 5-HT_{1A} receptor in the acutely dissociated rat dorsal raphe neurons. *Brain Res.* 1997;745:283-292.
 29. Jeong HJ, Han SH, Min BI, Cho YW. 5-HT_{1A} receptor-mediated activation of G-protein-gated inwardly rectifying K^+ current in rat periaqueductal gray neurons. *Neuropharmacology.* 2001;41:175-185.
 30. Giesler GJ Jr, Gerhart KD, Yeziarski RP, Wilcox TK, Willis WD. Postsynaptic inhibition of primate spinothalamic neurons by stimulation in nucleus raphe magnus. *Brain Res.* 1981;204:184-188.
 31. Todorovic S, Anderson EG. Serotonin preferentially hyperpolarizes capsaicin-sensitive C type sensory neurons by activating 5-HT_{1A} receptors. *Brain Res.* 1992;585:212-218.
 32. Carstens E, Klumpp D, Randic M, Zimmermann M. Effect of iontophoretically applied 5-hydroxytryptamine on the excitability of single primary afferent C- and A-fibers in the cat spinal cord. *Brain Res.* 1981;220:151-158.
 33. Del Mar LP, Cardenas CG, Scroggs RS. Serotonin inhibits high-threshold Ca^{2+} channel currents in capsaicin-sensitive acutely isolated adult rat DRG neurons. *J. Neurophysiol.* 1994;72:2551-2554.
 34. Cardenas CG, Del Mar LP, Scroggs RS. Variation in serotonergic inhibition of calcium channel currents in four types of rat sensory neurons differentiated by membrane properties. *J. Neurophysiol.* 1995;74:1870-1879.
 35. Yonehara N. Influence of serotonin receptor antagonists on substance P and serotonin release evoked by tooth pulp stimulation with electroacupuncture in the trigeminal nucleus caudalis of the rabbit. *Neurosci. Res.* 2001;40:45-51.
 36. Zhu LX, Zhao FY, Cui RL. Effect of acupuncture on release of substance P. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1991;632:488-489.