

## Effects of Somatostatin on the Substantia Gelatinosa Neurons of the Trigeminal Subnucleus Caudalis in the Adult Mice

Seon Ah Park<sup>#</sup>, Hua Yin<sup>#</sup>, Janardhan P. Bhattarai, Soo Joung Park, and Seong Kyu Han\*

Department of Oral Physiology & Institute of Oral Bioscience, School of Dentistry & BK21 Project, Chonbuk National University, Jeonju, Korea

(received October 16, 2009 ; revised November 10, 2009 ; accepted November 13, 2009)

Somatostatin (SST) is a known neuromodulator of the central nervous system. The substantia gelatinosa (SG) of the trigeminal subnucleus caudalis (Vc) receives many thin-myelinated A $\delta$ -fiber and unmyelinated C primary afferent fibers and is involved in nociceptive processing. Many studies have demonstrated that SST plays a pivotal role in pain modulation in the spinal cord. However, little is yet known about the direct effects of SST on the SG neurons of the Vc in adult mice. In our present study, we investigated the direct membrane effects of SST and a type 2 SST receptor agonist, seglitide (SEG), on the SG neurons of the Vc using a gramicidin-perforated current clamp in adult mice. The majority (53%, n = 27/51) of the adult SG neurons were hyperpolarized by SST (300 nM) but no differences were found in the hyperpolarization response rate between males and females. When SST was applied successively, the second response was smaller ( $76 \pm 9.5\%$ , n = 19), suggesting that SST receptors are desensitized by repeated application. SST-induced hyperpolarization was also maintained under conditions where presynaptic events were blocked ( $75 \pm 1.0\%$ , n = 5), suggesting that this neuromodulator exerts direct effects upon postsynaptic SG neurons. SEG was further found to induce membrane hyperpolarization of the SG neurons of the Vc. These results collectively demonstrate that SST inhibits the SG neuronal activities of the Vc in adult mice with no gender bias, and that these effects are mediated via a type 2 SST receptor, suggesting that this is a potential target for orofacial pain modulation.

**Key words:** somatostatin, substantia gelatinosa, trigeminal brainstem subnucleus caudalis, gramicidin perforated patch clamp

### 서론

신경펩티드인 소마토스타틴(somatostatin, SST)은 시상하부에서 합성, 방출되어 문맥순환을 통해 뇌하수체 전엽으로 이동된다. SST은 말초 및 중추신경계에 널리 분포하고 있으며, G-단백 연계 SST 수용체에 결합하여(Schindler *et al.*, 1996; Lahlou *et al.*, 2004) 감각정보 전달과 같은 다양한 생리적 작용에 영향을 준다(Epelbaum *et al.*, 1994). 삼차신경 감각핵 미측소핵(trigeminal subnucleus caudalis)은 척수후각과 구조와 기능이 비슷하여 연수후각(medullary dorsal horn)으로 불리며, 구강악안면 통증정보 전달에 중요한 역할을 담당한다(Sessle, 1996). 구강악안면 통증정보 전달과정과 관련된 삼차신경절 및 아교질 신경세포에 SST 수용체가 존재한다(Ichikawa *et al.*, 2003; Takeda, 2007). 또한 SST 유사체 투여시 미측소핵 내 c-Fos 발현 신경세포의 수가 감소되고(Bereiter, 1997), SST을 정맥 내로 투여시 진통효과가 관찰된다(Mollenholt *et al.*, 1994). 이상의 선행연구 결과로부터 SST 및 SST 수용체가 구강안면 통증 조절에 관여함을 짐작할 수 있으나 미측소핵 아교질 신경세포에서 SST의 역할에 대한 전기생리학적 결과에 대한 보고는 미약하다.

2형 SST 수용체는 성장호르몬 분비에 관여하고(Shimon *et al.*, 1997), 성장과정에 따라 그 발현정도가 달라질 수 있다. 예를 들어, 랫드 뇌하수체에서 2형 SST 수용체 mRNA의 경우 생후부터 발현정도가 급격히 증가하다가 생후 70일 이후에 감소된다. 그러나, 1, 3, 4, 그리고 5형 SST 수

<sup>#</sup>First two authors contributed equally to this work.

\*Corresponding author: Seong Kyu Han, Department of Oral Physiology & Institute of Oral Bioscience, School of Dentistry, Chonbuk National University, Jeonju, 561-756, Korea  
Tel.: +82-63-270-4030; Fax.: +82-63-270-4028;  
E-mail : skhan@chonbuk.ac.kr

용체 mRNA의 발현 양상은 연령에 따라 큰 변화를 보이지 않는다(Reed *et al.*, 1999). 이는 미측소핵 아교질 신경세포에서 기능적으로 SST의 반응성이 연령에 따라 달라질 수 있음을 시사하고 있다. 최근 Yin *et al.*(2009)은 어린 마우스 미측소핵 아교질 신경세포에서 SST 적용 시 대부분의 신경세포에서 과분극이 유발되고, 2형 SST의 mRNA가 발현될 뿐만 아니라 2형 SST 수용체 효현제인 segliltide에 의해서도 과분극이 유발됨을 확인함으로써 2형 SST 수용체가 어린 마우스에서 기능적으로도 발현되고 있음을 보고하였다(Yin *et al.*, 2009). 그러나, 마우스 미측소핵 아교질 신경세포에서 연령 및 성별에 따른 SST의 반응성에 대한 기능적 발현양상에 대한 보고는 아직 없다.

본 연구에서는 성체 마우스의 미측소핵 아교질 신경세포에서 SST의 작용양상과 성별에 따른 반응빈도 및 반응성의 차이를 gramicidin perforated patch clamp 방법으로 비교 분석하였다.

## 실험 방법

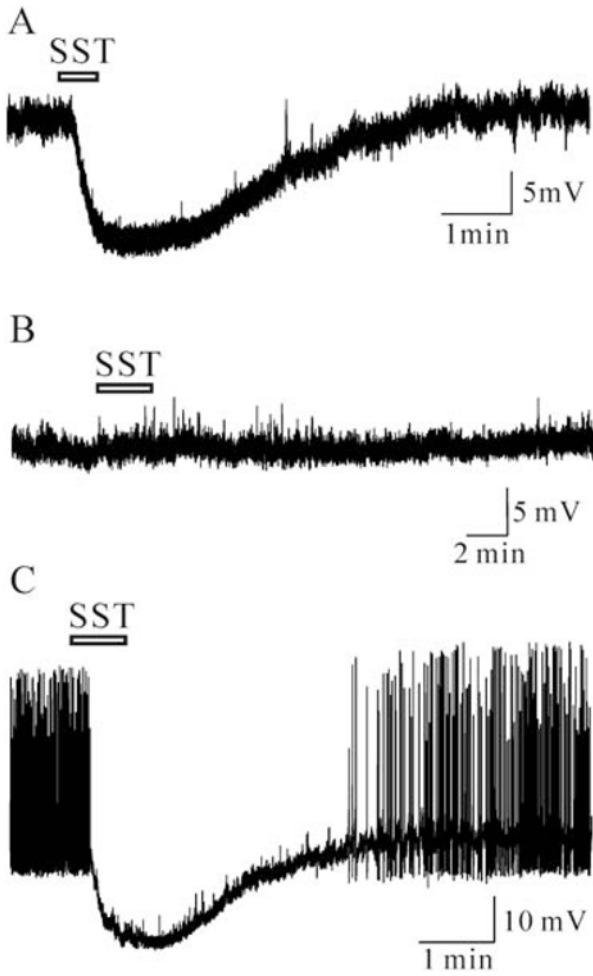
모든 실험은 전북대학교 실험동물실험윤리위원회의 승인을 얻어 실시하였다. 마우스(다물과학)는 12시간 빛, 12시간 어둠상태가 유지되었고, 사료와 물은 무제한 공급되었다. 생후 45일 이상의 성체 수컷 및 암컷 마우스를 경추탈골로 희생시키고 신속하게 뇌를 적출하여 차가운 인공뇌척수액(bicarbonate-buffered artificial cerebrospinal fluid)에 담갔다. 인공뇌척수액은 NaCl 126 mM, KCl 2.5 mM, CaCl<sub>2</sub> 2.4 mM, MgCl<sub>2</sub> 1.2 mM, D-glucose 11 mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.4 mM, NaHCO<sub>3</sub> 2.5 mM로 조성하였고 95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>로 포화 시 pH 7.4로 유지되도록 하였다. 차가운 인공뇌척수액 속에서 뇌절편 제작기(Microm, Germany)로 150-200 μm 두께의 뇌절편을 제작하였다. 뇌절편 제작 시 발생될 수 있는 세포손상으로부터 회복시키기 위해 기록 전 최소한 1시간 이상 상온에서 보관하였다. 뇌절편을 기록용 챔버에 옮기고, 인공 뇌척수액을 분당 4~5 ml의 속도로 지속적으로 관류시켰다. 뇌절편은 업라이트 현미경(BX50WI, Olympus, Japan)과 nomarski differential interference contrast optics하에서 관찰하였다. 미세유리전극(thin-wall borosilicate glass capillary tubing, PG52151-4, 외경 1.5 mm, 내경 1 mm, WPI)은 미세유리전극 제조기(P-97, Sutter Instruments Co. Novato, CA)를 이용하여 만들었다. 미세유리전극 용액은 0.22 μm 여과지를 통해 여과시켰고, KCl 130 mM, NaCl 5 mM, CaCl<sub>2</sub> 0.4 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, HEPES 10 mM, EGTA 1.1 mM로 조성하였으며, KOH를 이용하여 pH는 7.3으로 적정하였다. Gramicidin (Sigma, St. Louis, USA)은 dimethylsulfoxide (Sigma)에 녹여 2.5-5 mg/ml 농도로 만들고 사용하기 전에 최종 농도가 2.5-5 μg/ml이 되도록 미세전극용액에 희

석시키고 10분간 초음파처리를 하였다. Gramicidin-perforated patch clamp 방법으로 기록된 신호는 신호증폭기(Axopatch 200B, Axon Instruments, Foster City, CA)를 이용하여 증폭시켰다. 용액을 채운후 4-6 MΩ 정도의 저항을 보이는 미세유리전극을 실험에 이용하였다. 미세유리전극과 챔버용액 사이의 잔류편차는 giga-seal 형성 전 0 mV로 보정하였다. 미세전극을 세포에 부착(on cell mode)시킨 후 기다리면서 pore가 형성되는것을 관찰하였다. 막전압이 -45 mV이하로 떨어지고 access resistance가 40-100 MΩ가 되었을때 perforated mode로 간주하고 약물을 적용하고 막전압의 변화를 기록하였다. 막전압의 변화는 Digidata 1322A interface (Axon Instruments, USA)을 이용하여 PC에 저장후 분석하였다. 전기적 신호는 신호확장기의 bessel filter를 이용하여 2 kHz로 여과하였으며, 1 ms 간격(1 kHz)으로 PC에 저장하였다. 기록된 전기적 신호는 Clamfit 9 (Axon Instruments, USA)를 이용하여 분석하였으며, 모든 기록은 상온에서 이루어졌다. 농도의존성 실험에서는 막전압이 SST에 의해 유발된 과분극에서 안정상태로 완전히 회복될 때까지 기다린후 각각의 연속 적용 전 적어도 2분 이상 기다렸다. 시냅스전 효과를 억제하기 위해 SST 적용 전 amino acid blocker cocktail (AABC)을 전처리하였다. AABC는 tetrodotoxin citrate (TTX, 0.5 μM), 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione disodium salt (CNQX, 10 μM), d,l-2-amino-5-phosphonopentanoic acid (AP-5, 20 μM), picrotoxin (50 μM), strychnine (2 μM)으로 조성하였다. SST, segliltide, CNQX, AP5, picrotoxin, strychnine은 Sigma (USA)에서 구입하였고, TTX는 Tocris bioscience (UK)에서 구입하였다. Picrotoxin은 DMSO에, 다른 약물들은 고압멸균된 3차 증류수에 녹여 stock 상태로 만들고 실험직전 인공뇌척수액에 희석하여 실험에 이용하였다.

모든 수치는 평균 ± 표준오차로 표시하였다. 막전압 변화는 실험전 수준(시약 적용전 30초)과 최대 과분극 시기의 30초를 비교하여 계산하였다. X<sup>2</sup>-test, Student *t*-test, One sample *t*-test 및 One way ANOVA test가 반응 세포의 비율, 막전압 변화, 상대적 반응을 평가하기 위해 사용되었으며,  $p < 0.05$  일 때 유의한 것으로 간주하였다.

## 결 과

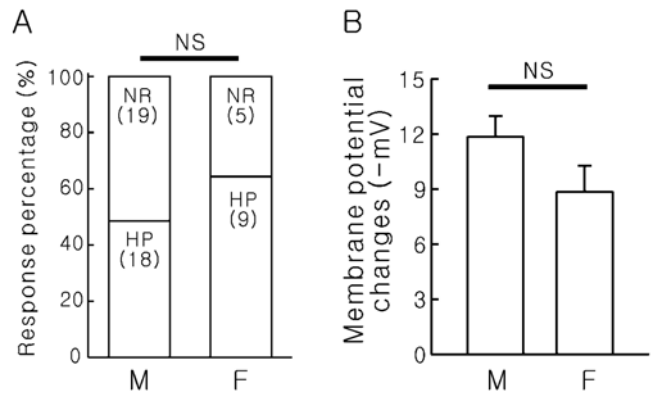
미측소핵 아교질 신경세포에서 gramicidin perforated-patch clamp recording을 시행하였다. 300 nM SST 적용 시 세포막 과분극(Fig. 1A), 무반응(Fig. 1B), 또는 활동전위의 감소를 동반한 세포막 과분극(Fig. 1C)이 관찰되었다. 총 51개의 세포 중 27개(53%)의 세포에서 과분극이(-10.90 ± 0.9 mV,  $n = 27$ ), 24개(47%)의 세포에서는 무반응이 관찰되었다. SST 적용은 수컷에서는 37개의 세포



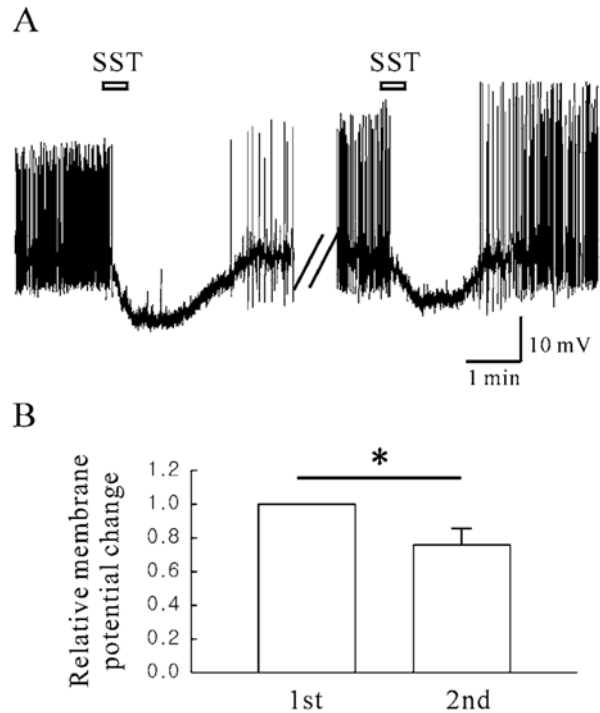
**Fig. 1.** Somatostatin (SST) induced various responses on SG neurons of Vc in adult mice. Gramicidin perforated representative voltage traces depicting hyperpolarization (A), no response (B), and hyperpolarization with action potential suppression (C), by bath application of SST (300 nM). Bars indicate the duration of SST application.

중 18개(48.6%)를 과분극(-11.9 ± 1.11 mV, n = 18), 암컷에서는 14개의 세포 중 9개(64.3%)를 과분극(-8.87 ± 1.40 mV, n = 9)시켰다. 과분극이 관찰된 반응비율은 암컷의 경우가 약간 높게 관찰되었으나 통계적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았고(Fig. 2A, X<sup>2</sup>-test, p > 0.05), 과분극을 보이는 세포 중에서 과분극 정도도 암수에 따른 유의한 차이가 관찰되지 않았다(Fig. 2B, student t-test, p > 0.05).

성체 미추소핵 아교질 신경세포에서 SST 반복 적용 시 탈감작 유무를 평가하고자, 반복적 300 nM의 SST를 적용하여 그 반응정도를 비교하였다. Fig. 3A는 SST 반복 적용에 의한 과분극을 보이는 세포들의 대표적인 막전압의 변화를 보여준다. Fig. 3B는 SST 연속 적용 시 첫 번째 적용에 의해 나타나는 반응에 대한 두 번째 적용시의 상대적인 반응을 보여 주는데(0.76 ± 0.10, n = 19), 통계적으로 유의한 차이를 보인다(One sample paired t-test, p < 0.05). Fig. 4A는 SST 적용에 의한 농도의 의존성을 보

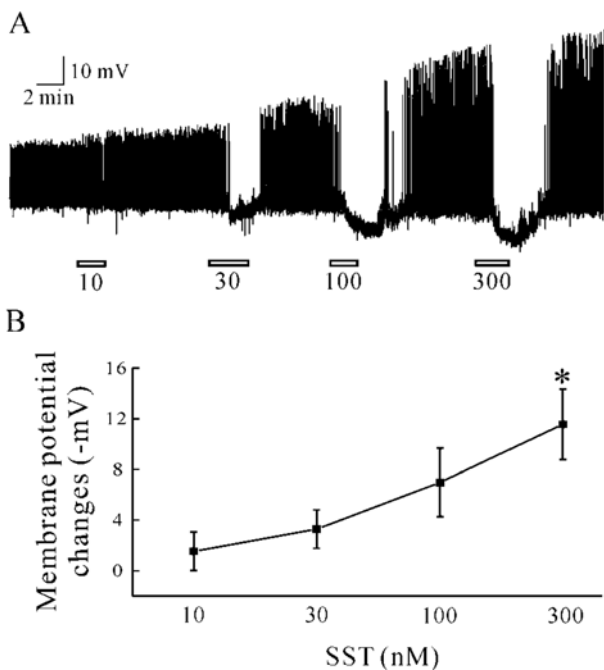


**Fig. 2.** Comparison of SST-induced responses between males and females. (A), Response percentage of hyperpolarization (HP) and no response (NR). (B), Comparison of membrane potential changes between males and females. NS, Not significant. M: Male, F: Female.



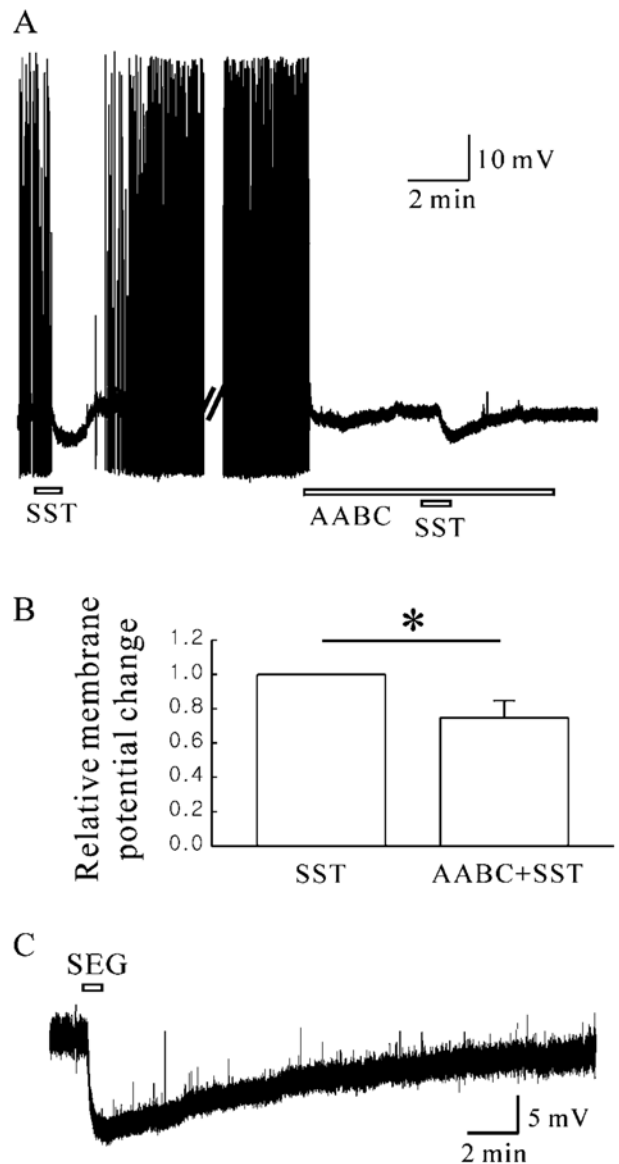
**Fig. 3.** Response by the successive application of SST on adult SG neurons. (A), A representative trace showing the repeated response by SST (300 nM). (B), Comparison of the membrane potential changes by the repeated application of SST (300 nM, n = 19, One sample paired t-test). \*represents p < 0.05. 1st: The first application, 2nd: The second application.

여주는 대표적 막전압 변화를 보여주고 있는데, SST에 의해 유발된 세포막 과분극은 고농도에서 더 크게 나타났다. Fig. 4B는 각 농도에 따른(n = 6) SST 적용시 나타나는 세포막 과분극을 나타내고 있는데(one-way ANOVA, p < 0.05), 각 농도에서 SST에 대한 반응비율도 농도의존적인 경향을 보였다(10 nM, 17%; 30 nM, 67%; 100 nM, 67%; 300 nM, 100%; p < 0.05, X<sup>2</sup>-test).



**Fig. 4.** Concentration-response relationship. (A), Representative trace from an adult SG neuron showing concentration dependent membrane hyperpolarization after the application of 10, 30, 100, and 300 nM SST. (B), Concentration response curve showing up grading responses at various SST concentrations. Each point represents the mean values ( $\pm$  S.E.M.).

SST가 아교질 신경세포에 직접적으로 작용하는지의 여부를 조사하고자, 나트륨 통로 길항제인 tetrodotoxin (TTX) 과 시냅스전 신경말단에서 분비된 glutamate, GABA, glycine에 의해 매개되는 가능성을 배제하기 위해, AP-5 (NMDA glutamate 수용체 길항제), CNQX (non-NMDA glutamate 수용체 길항제), picrotoxin (GABA<sub>A</sub> 수용체 길항제), strychnine (glycine 수용체 길항제)를 포함하는 amino acid blocker cocktail (AABC)을 전처치한 상태에서 SST의 반응성을 조사하였는데, SST 단독 적용시 과분극을 나타낸 모든 신경세포들은 AABC 존재하에서도 세포막 과분극을 유발하였다(Fig. 5A). Fig. 5B는 SST 단독적용시 나타난 과분극 반응에 대한 AABC 존재하에서 SST 적용에 의해 나타나는 과분극 반응의 상대적인 값( $0.75 \pm 0.01$ ,  $n = 5$ )을 보여주고 있으며, 상대적인 반응은 통계적으로 유의한 차이를 보였다(One sample Paired  $t$ -test,  $p < 0.05$ ). Fig. 5C는 2형 SST 수용체 효현제인 seglitide (SEG) 적용시 과분극 반응의 대표적인 예를 보여주고 있으며, 총 11개의 세포 중 8개(73%)의 세포에서 과분극( $-15.4 \pm 3.03$  mV,  $n = 8$ )이 유발되었으나 나머지 3개(17%)에서는 반응이 관찰되지 않았는데, 마우스 성체 미측소핵 아교질 신경세포에서는 SST가 적어도 2형 SST 수용체를 매개로 하여 억제성 반응을 유발함을 시사한다.



**Fig. 5.** SST acts on the postsynaptic SG neuron. (A), A representative trace showing hyperpolarization by SST application (300 nM). SST-induced membrane hyperpolarization was persisted in the presence of AABC (amino acid blocker cocktail) including TTX (Na<sup>+</sup> channel blocker), AP-5 (NMDA receptor antagonist), CNQX (non-NMDA glutamate receptor antagonist), picrotoxin (GABA<sub>A</sub> receptor blocker) and strychnine (glycine receptor blocker). (B), Comparison of the membrane potential changes between by SST alone and by SST in the presence of AABC ( $n = 5$ , paired  $t$ -test,  $p < 0.05$ ). \*represents  $p < 0.05$ . (C), A representative trace showing hyperpolarization by seglitide (SEG 1  $\mu$ M) in a mimicking of SST-induced membrane hyperpolarization.

**고 찰**

Gramicidin은 1가 양이온만을 통과시키는 이온운반체로서, 세포내 Cl<sup>-</sup>, Ca<sup>2+</sup> 및 2차 전달자 시스템을 그대로 유지한 상태에서 whole cell mode에서 기록하는 방법과 같이 세포막 전체 이온통로의 활성을 기록할 수 있는 장점이 있다(Rhee *et al.*, 1994). SST은 G-단백과 연계된 수

용체에 결합하여 세포내 2차 전달계를 매개로 하여 특정 효과를 나타내기 때문에 일반적인 whole cell mode보다는 gramicidin등을 이용한 perforated patch clamp 방법이 아주 유용한 것으로 알려져 있다(Han *et al.*, 2004). 따라서, 본 연구에서도 gramicidin perforated patch clamp 기법을 이용하여 성체 마우스 미측소핵의 아교질 신경세포에 SST를 적용한 결과 53%(27/51)의 아교질 신경세포가 과분극되어 활성이 억제됨을 관찰하였다.

SST에 의한 세포활성 억제효과는 랫드의 척수후각(Mollenholt *et al.*, 1994; Jiang *et al.*, 2003), 삼차신경절(Takeda *et al.*, 2007), 해마신경(Pittman과 Siggins, 1981; Moore *et al.*, 1988)등 다양한 신경세포에서 보고된 바 있다. 최근에, Yin 등(2009)은 미성숙 마우스 미측소핵 아교질 신경세포에서 SST이 기록세포들의 54% (37/68)에서 과분극을 유발한 반면, 5% (2/68)의 기록세포들에서 탈분극을 유발하였다고 보고하였다. 성체 마우스에서 얻어진 본 연구 결과는 미성숙 마우스에서 얻어진 약간의 탈분극 반응성을 제외하면 유사한 과분극 유발빈도 등 대체로 SST에 의한 연령별 반응성의 차이는 없었다. 미성숙 마우스에서 관찰된 약간의 탈분극 현상이 본 연구의 성숙 마우스에서 보이지 않는 이유는 아마도 기록한 미측소핵 아교질 신경세포들의 다양성에서 기인된 것으로 사료된다.

본 연구의 결과는 SST에 의한 과분극 유발비율이 수컷에서는 49% 그리고 암컷에서는 64%로 암컷에서 더 높은 비율로 관찰되었으나 통계적으로 유의한 차이가 관찰되지는 않았는데, 이는 SST의 반응성이 성별에 대한 차이가 없음을 보여준다.

일반적으로 G-단백 매개 수용체는 효현제에 지속적 노출시 음성피드백 조절기전에 의한 탈감작을 야기시키는 것으로 보고되고 있으며(Böhm *et al.*, 1997; Lefkowitz, 1998), 이러한 현상은 GPCR kinase (Premont *et al.*, 1995; Horie 와 Insel, 2000) 또는 protein kinase A 혹은 C와 같은 2차 전달자 의존적 kinase (Yoon *et al.*, 1998; Kramer 와 Simon, 1999; Rapacciuolo *et al.*, 2003)을 통한 수용체의 인산화에 기인하는 것으로 알려져 있다. SST 수용체의 탈감작은 포피(Holliday *et al.*, 2007), 랫드의 해마 배양신경세포(Shim *et al.*, 2006), 랫드의 신피질 신경세포(Wang *et al.*, 1990) 등 다양한 세포에서 보고되었다. 본 연구에서는 마우스 미측소핵 아교질 신경세포에서 SST의 연속적용이 탈감작현상을 유발하는지를 관찰하였는데, 두 번째 SST를 적용한 결과 평균 과분극 막전압 변화의 비율이 첫 번째 반응의 76%로 감소되었다. 이러한 결과는 타 세포에서처럼 미측소핵 아교질 신경세포에서도 SST에 의한 탈감작현상이 발생함을 시사한다.

아교질에서 내인성 SST는 하행성회로, 일차구심성 신경섬유 또는 아교질내 중간신경세포로부터 유리되어(Nakatsuka

*et al.*, 2008; Krisch, 1981; Tessler *et al.*, 1986) 통증정보 전달을 억제함으로써 진통효과를 보이는 것으로 알려져 있다(Nakatsuka *et al.*, 2008). 미측소핵 아교질 신경세포는 연수후각 외부로 축삭을 내보내는 투사신경세포(projection neuron)와 연수후각 내에 존재하는 내인성 중간신경세포(intrinsic interneurons) 등 여러 종류가 있다(Li *et al.*, 1999). 중간신경세포는 억제성 또는 흥분성일 수 있으나 본 연구의 결과로는 기록된 신경세포가 투사신경세포인지 아니면 중간신경세포인지 확인할 수 없으며 중간 신경세포가 억제성 또는 흥분성인지도 확인할 수 없는 단점이 있다. 이를 밝히기 위해서는 추가적인 실험을 필요로 한다.

Fig. 5B처럼, TTX, AP-5, CNQX, picrotoxin, strychnine 이 섞인 AABC용액을 적용하여 막전압 의존성 나트륨통로, ionotropic glutamate 수용체, GABA<sub>A</sub> 수용체, 그리고 glycine 수용체를 억제한 상태에서의 SST효과는 AABC용액 처치전에 비해 75% 정도의 반응성을 보였는데, SST에 의해 유발된 세포막의 과분극이 흥분성 및 억제성 신경전달을 차단하고자 적용했던 AABC용액에 의해서 억제되었다고 단정하기는 어려운데, Fig. 3에서처럼 SST의 반복적용에 의한 SST 수용체의 탈감작 특성에 기인한 것으로 볼 수도 있기 때문이다. 또한 Fig. 3에서 보여주듯이, SST 수용체들이 반복적 적용으로 탈감작 될 수 있다고 하더라도 SST에 의해 유발된 세포막 과분극은 농도 의존성을 보여 주었다. 이러한 결과들은 SST이 세포체나 수상돌기에 있는 SST 수용체에 직접적으로 작용하여 과분극을 유발하였음을 시사한다.

현재까지 SST 수용체는 5종류의 아형이 알려져 있으며(Hoyer *et al.*, 1995; Patel, 1999; Schonbrunn *et al.*, 1996), 어린 마우스 미측소핵 아교질 신경세포에는 2형 SST 수용체 mRNA가 발현되며, 기능을 함을 보여주었다(Yin *et al.*, 2009). 따라서, 성체 마우스의 미측소핵 아교질 신경세포들에서도 비슷한 반응을 보이기를 알아보고자 2형 SST 수용체 효현제로 알려진 seglitide에 대한 반응성을 조사하였으며, seglitide (SEG, 1  $\mu$ M)은 SST에 의해 유발된 세포막 과분극과 유사한 반응을 관찰하였다. 이는 2형 SST 수용체가 성체 마우스의 미측소핵 아교질 신경세포에서 SST에 의한 세포막 과분극을 매개함을 시사한다.

결론적으로, 본 연구는 외인성 SST이 성체 미측소핵 아교질 신경세포의 활성을 억제함을 보여 주었으나 성별과 연령에 따른 차이는 보여주지 못했다. 본 연구결과는 상위중추 혹은 국소신경회로에서 분비되는 SST이 연수후각 신경세포의 활성을 억제함으로써 구강안면통증 조절에 관여할 수 있음을 시사하며, 이는 성체에서도 2형 SST 수용체를 매개로 하고 있음을 시사하고 있다.

## 감사의 글

본 논문은 2007년도 정부(과학기술부)의 재원으로 한국 과학재단의 지원을 받아 수행된 연구임(R01-2007-000-10601-0).

## 참고문헌

- Bereiter DA. Morphine and somatostatin analogue reduce c-fos expression in trigeminal subnucleus caudalis produced by corneal stimulation in the rat. *Neuroscience*. 1997;77:863-74.
- Böhm SK, Grady EF, Bunnett NW. Regulatory mechanisms that modulate signalling by G-protein-coupled receptors. *Biochem J*. 1997;322:1-18.
- Epelbaum J, Dournaud P, Fodor M, Viollet C. The neurobiology of somatostatin. *Crit Rev Neurobiol*. 1994;8:25-44.
- Han SK, Todman MG, Herbison AE. Endogenous GABA release inhibits the firing of adult gonadotropin releasing hormone neurons. *Endocrinology*. 2004;145:495-9.
- Holliday ND, Tough IR, Cox HM. A functional comparison of recombinant and native somatostatin sst2 receptor variants in epithelia. *Br J Pharmacol*. 2007;152:132-40.
- Horie K, Insel PA. Retrovirally mediated transfer of a G protein-coupled receptor kinase (GRK) dominant-negative mutant enhances endogenous calcitonin receptor signaling in Chinese hamster ovary cells. GRK inhibition enhances expression of receptors and receptor mRNA. *J Biol Chem*. 2000;275:29433-40.
- Hoyer D, Bell GI, Berelowitz M, Epelbaum J, Feniuk W, Humphrey PP, O'Carroll AM, Patel YC, Schonbrunn A, Taylor JE, Reisine T. Classification and nomenclature of somatostatin receptors. *Trends Pharmacol Sci*. 1995;16:86-8.
- Ichikawa H, Schulz S, Höllt V, Sugimoto T. The somatostatin sst2A receptor in the rat trigeminal ganglion. *Neuroscience*. 2003;120:807-13.
- Jiang N, Furue H, Katafuchi T, Yoshimura M. Somatostatin directly inhibits substantia gelatinosa neurons in adult rat spinal dorsal horn in vitro. *Neurosci Res*. 2003;47:97-107.
- Kramer HK, Simon EJ. Role of protein kinase C (PKC) in agonist-induced mu-opioid receptor down-regulation: I. PKC translocation to the membrane of SH-SY5Y neuroblastoma cells is induced by mu-opioid agonists. *J Neurochem*. 72(2):585-593, 1999.
- Krisch B. Somatostatin-immunoreactive fiber projections into the brain stem and the spinal cord of the rat. *Cell Tissue Res*. 1981;217:531-52.
- Lahlou H, Guillermet J, Hortala M, Vernejoul F, Pyronnet S, Bousquet C, Susini C. Molecular signaling of somatostatin receptors. *Ann NY Acad Sci*. 2004;1014:121-31.
- Li YQ, Li H, Kaneko T, Mizuno N. Substantia gelatinosa neurons in the medullary dorsal horn: An intracellular labeling study in the rat. *J Comp Neurol*. 1999;411:399-412.
- Lefkowitz RJ. G protein-coupled receptors. III. New roles for receptor kinases and beta-arrestins in receptor signaling and desensitization. *J Biol Chem*. 1998;273:18677-80.
- Mollenholt P, Rawal N, Gordh TJr, Olsson Y. Intrathecal and epidural somatostatin for patients with cancer. Analgesic effects and postmortem neuropathologic investigations of spinal cord and nerve roots. *Anesthesiology*. 1994;81:531-3.
- Moore SD, Madamba SG, Joëls M, Siggins GR. Somatostatin augments the M-current in hippocampal neurons. *Science*. 1998;239:278-80.
- Nakatsuka T, Fujita T, Inoue K, Kumamoto E. Activation of GIRK channels in substantia gelatinosa neurones of the adult rat spinal cord: a possible involvement of somatostatin. *J Physiol*. 2008;586:2511-22.
- Patel YC. Somatostatin and its receptor family. *Front Neuroendocrinol*. 1999;20:157-98.
- Pittman QJ, Siggins GR. Somatostatin hyperpolarizes hippocampal pyramidal cells in vitro. *Brain Res*. 1981;221:402-8.
- Premont RT, Inglese J, Lefkowitz RJ. Protein kinases that phosphorylate activated G protein-coupled receptors. *FASEB J*. 1995;9:175-82.
- Rapacciuolo A, Suvarna S, Barki-Harrington L, Luttrell LM, Cong M, Lefkowitz RJ, Rockman HA. Protein kinase A and G protein-coupled receptor kinase phosphorylation mediates beta-1 adrenergic receptor endocytosis through different pathways. *J Biol Chem*. 2003;278:35403-11.
- Reed DK, Korytko AI, Hipkin RW, Wehrenberg WB, Schonbrunn A, Cuttler L. Pituitary somatostatin receptor (sst)1-5 expression during rat development: age-dependent expression of sst2. *Endocrinology*. 1999;140:4739-44.
- Rhee JS, Ebihara S, Akaike N. Gramicidin perforated patch-clamp technique reveals glycine-gated outward chloride current in dissociated nucleus solitari neurons of the rat. *J Neurophysiol*. 1994;72:1103-8.
- Schindler M, Humphrey PP, Emson PC. Somatostatin receptors in the central nervous system. *Prog Neurobiol*. 1996;50:9-47.
- Schonbrunn A, Gu YZ, Dournard P, Beaudet A, Tannenbaum GS, Brown PJ. Somatostatin receptor subtypes: specific expression and signaling properties. *Metabolism*. 1996;45:8-11.
- Sessle BJ. Mechanisms of trigeminal and occipital pain. *Pain Rev*. 1996;3:91-116.
- Shim EY, Kim HJ, Kim MJ, Rhie DJ, Jo YH, Kim MS, Hahn SJ, Lee MY, Yoon SH. Desensitization of somatostatin-induced inhibition of low extracellular magnesium concentration-induced calcium spikes in cultured rat hippocampal neurons. *Brain Res*. 2006;1111:61-71.
- Shimon I, Yan X, Taylor JE, Weiss MH, Culler MD, Melmed S. Somatostatin receptor (SSTR) subtype-selective analogues differentially suppress in vitro growth hormone and prolactin in human pituitary adenomas. Novel potential therapy for functional pituitary tumors. *J Clin Invest*. 1997;100:2386-92.
- Takeda M, Kadoi J, Takahashi M, Nasu M, Matsumoto S. Somatostatin inhibits the excitability of rat small-diameter trigeminal ganglion neurons that innervate nasal mucosa and project to the upper cervical dorsal horn via activation of somatostatin 2a receptor. *Neuroscience*. 2007;148:44-756.
- Tessler A, Himes BT, Gruber-Bollinger J, Reichlin S. Characterization of forms of immunoreactive somatostatin in sensory

- neuron and normal and deafferented spinal cord. *Brain Res.* 1986;370:232-40.
- Wang HL, Dichter M, Reisine T. Lack of cross-desensitization of somatostatin-14 and somatostatin-28 receptors coupled to potassium channels in rat neocortical neurons. *Mol Pharmacol.* 1990;38:357-61.
- Yin H, Lee KE, Park SA, Bhattarai JP, Suh BJ, Jeon JG, Kim BG, Park SJ, Han SK. Inhibitory effects of somatostatin on the substantia gelatinosa neurons of trigeminal subnucleus caudalis via somatostatin type 2 receptors in juvenile mice. *Brain Res.* in press, 2009.
- Yoon SH, Jin W, Spencer RJ, Loh HH, and Thayer SA. Desensitization of delta-opioid-induced mobilization of  $Ca^{2+}$  stores in NG108-15 cells. *Brain Res.* 1998;802:9-18.