

A Blockade of the Central MAPK Pathway Attenuates Referred Pain in Rats with Complete Freund's Adjuvant -Induced Inflammation of the Temporomandibular Joint

Kyoung A. Won¹, Nak H. Lim¹, Min K. Lee¹, Min K. Park¹, Gwi Y. Yang¹,
Yoon-Yub Park³, Dong K. Ahn^{1*}, and Yong C. Bae^{2*}

¹Department of Oral Physiology, Kyungpook National University, Daegu, Korea

²Department of Oral Anatomy, Kyungpook National University, Daegu, Korea

³Department of Physiology, School of Medicine, Catholic University of Daegu

(received August 4, 2010 ; revised August 23, 2010 ; accepted September 3, 2010)

We investigated the role of the central MAPK pathways in extra-territorial (referred) pain resulting from inflammation of the temporomandibular joint (TMJ). Experiments were carried out on male Sprague-Dawley rats weighing 220-280 g. Under anesthesia, these animals were injected with 50 μ L of complete Freund's adjuvant (CFA) into the TMJ using a Hamilton syringe. In the control group, saline was injected into the TMJ. To identify the extent of inflammation of the TMJ, Evans blue dye (0.1%, 5 mg/kg) was injected intravenously at 1, 3, 6, 9, 12 and 15 days after CFA injection. The concentration of Evans blue dye in the extracted TMJ tissue was found to be significantly higher in the CFA-treated animals than in the saline-treated group. Air-puff thresholds in the vibrissa pad area were evaluated 3 days before and at 3, 6, 9, 12, 15 and 18 days after CFA injection into the TMJ. Referred mechanical allodynia was established at 3 days, remained until 12 days, and recovered to preoperative levels at 18 days after CFA injection. This referred mechanical allodynia was observed in contralateral side area. To investigate the role of central MAPK pathways, MAPK inhibitors (10 μ g) were administrated intracisternally 9 days after CFA injection. SB203580, a p38 MAPK inhibitor, significantly attenuated referred mechanical allodynia, as compared with the vehicle group. PD98059, a MEK inhibitor, also reduced

CFA-induced referred mechanical allodynia. These results suggest that TMJ inflammation produces extra-territorial mechanical allodynia, and that this is mediated by central MAPK pathways.

Key words: temporomandibular joint, referred pain, p38 MAPK, ERK, complete Freund's adjuvant.

서 론

측두하악관절(temporomandibular joint, TMJ)은 측두골과 하악골을 이어주는 관절로 이곳에 염증이 생기거나 탈구 등 기능장애가 발생하면 측두하악관절장애(temporomandibular disorder, TMD)를 유발시킬 수 있다. 측두하악관절장애의 주요 증상에는 턱관절의 소리, 움직임 제한 등을 동반하는데 측두하악관절에서 발생하는 통증도 측두하악관절장애를 가진 환자의 주요 증상 중 하나이다. 그러나, 측두하악관절 장애환자에서 발생하는 악관절 통증은 개체에 따라 다르게 나타나며 통증의 전도나 조절기전에 대해서는 알려진 바가 많지 않다.

측두하악관절장애를 가진 환자는 측두하악관절 영역에서 통증이 발생할 뿐만 아니라 두개안면부와 목 그리고 가슴과 심장에서도 통증을 호소하기도 한다(Fricton *et al.*, 1985; Okeson and Bell, 1995; Okeson, 1996; Rusiecki, 1998; Yap *et al.*, 2002). 이처럼 신체의 어떤 한 부분에서 일어난 문제점이 그 발생 부위뿐만 아니라 다른 부위에도 영향을 주어 통증을 일으키는 것을 연관통(referred pain)이라 하는데 앞선 보고들은 측두하악관절장애를 가진 환

*Corresponding author: Dong-Kuk, Ahn, DDS, PhD, Department of Oral Physiology, School of Dentistry, Kyungpook National University, 188-1 Sam Deok 2 ga, Chung-gu, Daegu (700-412), Korea E-mail: dkahn@knu.ac.kr

Yong-Chul, Bae, DDS, PhD, Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Kyungpook National University, 188-1 Sam Deok 2 ga, Chung-gu, Daegu (700-412), Korea E-mail: ycbae@knu.ac.kr

자에서도 연관통이 발생할 수 있다는 것을 말해준다. 연관통은 말초에서 자극을 수용하는 여러 신경이 중추신경계의 시냅스에서 합쳐져서 상부로 전달(Wright, 2000)되기 때문에 나타나는 것으로 알려져 있으나 측두하악관절에서 발생하는 통증에 의해 나타나는 연관통을 연구한 보고는 많지 않으며, 또한 발생기전에 대해서도 알려진 바가 많지 않는 실정이다.

Mitogen-activated protein kinases (MAPKs)는 extracellular signal-regulated protein kinase (ERK), p38 MAPK, c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase (JNK/SAPK)로 분류되며 세포 신호 전달 등의 다양한 세포기능을 담당하는 것으로 알려져 있다(Obata and Noguchi, 2004). 이 중 p38 MAPK는 일반적으로 세포 스트레스(cellular stress)와 pro-inflammatory cytokine에 의해 활성화되어 염증반응에 중요한 역할을 한다(Ji *et al.*, 2008). ERK는 MAPK 성분 중에서 가장 먼저 밝혀진 물질로 세포 유사분열, 증식, 분화 그리고 생존에 중요하게 관여한다(Widmann *et al.*, 1999). 흥미로운 사실은 최근 연구에서 MAPK가 통증발생과 유지에 매우 중요하게 작용한다는 다양한 증거들이 제시되고 있다는 것이다. 전신 혹은 척수강으로 p38 MAPK 억제제를 투여하면 흰쥐 관절에 complete Freund's adjuvant (CFA)를 주입하여 발생하는 관절통증을 효과적으로 감소시켰다(Kuan *et al.*, 2003; Boyle *et al.*, 2006). 또한 ERK1/2 생성을 억제하기 위하여 MEK 억제제를 투여하면 흰쥐 앞발에 CFA를 주입하여 나타나는 염증성 열 통각과민(inflammatory heat hyperalgesia) 현상과 기계적 이질통증(mechanical allodynia)을 유의하게 감소시켰다(Ji *et al.*, 2002; Adwanikar *et al.*, 2004). 이러한 실험결과는 MAPK 경로가 신경가소성(neuronal plasticity) 형성으로 인한 통증발생과 유지에 중요한 역할을 하여 통증을 조절할 수 있다는 것(Ji, 2004; Obata and Noguchi, 2004) 암시한다.

본 연구에서는 CFA를 흰 쥐의 측두하악관절에 주입하여 악관절 염증을 유발하고 안면 피부에 발생하는 연관통을 확인하였다. 또한 측두하악관절의 염증에 의해 나타나는 연관통증 전도에 중추성 MAPK pathway가 관여하고 있음을 증명하고자 하였다.

실험재료 및 방법

실험동물

실험동물은 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐(220-280 g)를 사용하였고, 경북대학교 치의학전문대학원 동물실에서 실험동물용 사료와 물을 자유로이 공급하며 사육하였다. 본 연구는 경북대학교 치과대학 실험동물위원회의 승인을 얻었으며, 의식이 있는 동물의 실험에 관한 통증연구학회의 윤리적 규정을 준수하였다.

악관절 내로 CFA 주입

실험동물은 스트레스를 최소화하기 위해서 실험 전 30분 동안 관찰통에 놓아 적응시켰으며, 적응기간 후에 실험동물을 ketamine (0.2 g/kg)과 xylazine (0.02 g/kg) 혼합액으로 마취시켰다. 마취된 흰 쥐의 측두하악관절 내로 Hamilton 주사기를 이용하여 50 μ L의 CFA를 주입하였으며, 대조군에는 생리식염수를 각각 주입하였다.

염증확인

측두하악관절 내로 CFA가 주입되어 염증반응을 야기하였는지 확인하기 위하여 Evans' blue 염색시약을 이용하여 확인하였다(Harada *et al.*, 1971; Haas *et al.*, 1992; Cairns *et al.*, 1998; Choi *et al.*, 2005). CFA를 주입하고 1, 3, 6, 9, 12, 그리고 15일이 지난 다음 각각 5마리의 실험동물을 희생하여 염증반응을 확인하였으며 대조군으로는 생리식염수를 주입하였다. 염증은 실험동물을 ketamine (0.2 g/kg)과 xylazine (0.02 g/kg) 혼합액으로 마취시키고, Evans' blue 염색시약(0.1%, 5 mg/kg)을 우측대퇴정맥으로 주입하여 염색시약을 정량하여 확인하였다. 염색시약 주입 10분 뒤, 각 실험동물은 생리식염수로 관류시키고 관절조직을 적출하였다. 관절조직은 아세톤과 5% 나트륨 황산염 혼합액(6:4)에 넣어 간헐적으로 흔들어주며 상온에서 하루 동안 두었다. 그 후 조직을 300 rpm으로 10분 간 원심분리 시키고 상층액을 분리하였다. 분리된 상층액을 분광광도계를 이용하여 흡광도 620 nm에서 측정하여 유리된 염색시약의 농도를 측정하였다.

피부에 나타나는 통증 평가

실험동물은 CFA를 주입한 실험군(n=8)과 생리식염수를 주입한 대조군(n=8)으로 나누어 행위반응을 평가하였다. 이질통을 평가하기 위해 공기자극 테스트(air-puff test)를 이용하였는데, 실험은 수술 전과 수술 후 3, 6, 9, 12, 15, 18일에 각각 수행하였다. 이질통을 관찰하기 위하여, 실험동물은 한 마리씩 투명한 플라스틱 상자에 분리하였고 실험동물 안면영역에 공기자극(air-puffs)을 받을 수 있도록 상자 상단은 닫지 않은 상태로 두었다(Ahn *et al.*, 2005; Jung *et al.*, 2006). 실험용 플라스틱 상자는 밝지 않으면서 조용한 공간에 두었고, 실험동물을 최소 30분 이상 안정화 시켰다. 먼저 안면영역에서 공기자극에 가장 예민하게 통증반응을 야기하는 수용야를 확인하였고, 이어서 연속된 10번의 공기자극(4초 동안의 지속시간, 10초의 간격)에 반응하여 머리를 회피하거나 깨우는 등의 공격적인 행동을 행위반사의 평가기준으로 삼았다. 공기자극 세기와 간격은 pneumatic pump module (HB2 system, Harvard Apparatus, USA)로 조절하였다. 공기자극은 금속관(20 gauge, 10 cm)을 통해 피부로부터 1 cm 떨어진 곳에서 적용하였다. 자극의 역치는 총 시도에서 50% 이상의 반응을 보인 경우로 평가하였으며(Yang *et al.*, 2005; Jung *et*

al., 2006) 40psi 이상의 자극에서도 반응이 나타나지 않으면 자극을 중지하였다. 정상적인 동물은 40psi 이하의 압력에서는 어떠한 통증 반응도 보이지 않았다.

피부에 나타나는 이질통에 중추성 MAPK/ERK 경로 억제 효과

CFA 주입으로 측두하악관절에 발생시킨 실험동물에서 안면피부에 나타나는 이질통증 전도에 중추성 MAPK pathway가 관여하고 있음을 증명하기 위하여 p38 MAPK 억제제와 MEK 억제제를 소뇌연수조로 각각 주입하였다. 약물의 주입은 통증이 가장 크게 나타나는 CFA 주입 후 9일 째에 실시하였다. 약물주입을 위하여 CFA 주입 6일째에 실험동물을 ketamine (0.2 g/kg)과 xylazine (0.02 g/kg) 혼합액으로 마취시켰으며 마취된 쥐는 stereotaxic frame으로 머리를 고정시키고 폴리에틸렌관(PE10)을 소뇌연수조 내로 삽입하였다(Yaksh and Rudy, 1976; Ahn et al., 1998; Wang et al., 2002). 폴리에틸렌관은 두개골 부위로 빼내어 금속 나사못과 치과용 레진을 사용하여 머리에 고정하였다. 수술 후 72시간 동안 실험동물을 회복시키고, p38 MAPK 억제제인 SB203580(1, 10 µg/10 µL)와 MEK 억제제인 PD98059(1, 10 µg/10 µL)를 식립한 폴리에틸렌관을 통해 소뇌연수조로 주입하였다. 폴리에틸렌관의 용적을 고려하여 약물주입 후 생리식염수 10 µL를 추가로 주입하였다. 약물 주입 전과 주입 후 15, 30, 60, 120, 180, 360 분 그리고 24시간 째 공기자극 테스트를 실시하여 이질통증에 미치는 영향을 평가하였다. 통증 평가가 끝난 후에 폴리에틸렌관이 제대로 삽입되어 약물이 정상적으로 들어갔는지 확인하기 위해서 pontamine sky blue를 주입하였다. SB203580과 PD98059는 70% DMSO에 용해시켰다.

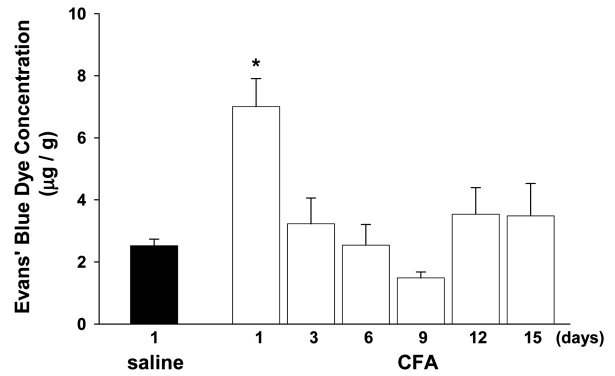
통계분석

행위반응 실험결과와 통계 분석은 다중 그룹에서 반복측정자료의 분산분석법과 LSD post-hoc test를 이용하였다. 그룹간의 평균값을 비교하기 위하여 Student's T-test를 실시하였다. 통계적인 비교를 위해 통계적 유의성의 표준값은 p < 0.05로 설정하였다. 모든 결과는 평균 ± 표준 오차 (SEM)로 표시하였다.

결 과

CFA를 측두하악관절로 주입하여 나타나는 염증정도를 악관절조직으로 유리된 Evans' blue 염색시약의 농도를 측정하여 Fig. 1에 나타내었다. 생리식염수를 악관절로 주입한 후 1일째 되는 그룹에서 염색시약의 농도는 2.5 ± 0.2 µg/g 으로 나타났다. CFA 주입 후 1일째에 대조군으로 생리식염수를 주입한 그룹과 비교하면 CFA를 주입한 동측의 악관절 조직에서 염색약 농도가 유의하게 증가하였다(p <

A: Ipsilateral



B: Contralateral

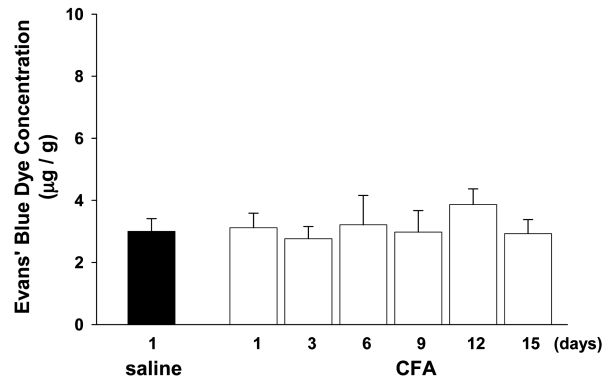


Fig. 1. Spectrophotometric measurement (620 nm) of plasma protein extravasation using Evans' blue dye bound to protein in the TMJ. CFA-induced TMJ inflammation was indicated by plasma extravasation. There were 5 animals in each treatment. *P < 0.05, saline vs. CFA injection in TMJ.

0.05, Fig. 1A). 그러나 CFA 주입 후 3일째 염색약의 농도는 대조군의 수준으로 낮아졌으며 염증반응은 회복되었다. CFA를 주입한 반대편에서는 CFA의 주입 따른 염색약의 농도 변화는 관찰 되지 않았다 (Fig. 1B).

흰 쥐의 측두하악관절에 CFA 주입한 다음 안면 피부에서 나타나는 통증과민 현상을 air-puff 테스트를 이용하여 시간에 따라 측정하여 Fig. 2에 나타내었다. 생리식염수를 주입한 대조군에서는 40psi 압력의 공기자극을 가하여도 유의한 회피반응을 나타내지 않았다. 그러나 CFA를 주입한 실험군에서는 주입한 곳과 같은 편 안면 피부에 공기자극을 가하였을 때 역치 값이 유의하게 감소하는 것을 확인할 수 있었다(P < 0.05, Fig. 2A). 이러한 이질통은 CFA를 측두하악관절에 주입한 3일째부터 유의하게 나타났으며, 12일째까지 유의하게 지속되었다. 공기자극 역치 값은 수술 후 18일째에 수술 전과 비슷한 수준으로 회복하였다. 측두하악관절에 CFA를 주입함으로써 생기는 안면 피부 영역에서 발생하는 이질통증은 반대편에서도 나타났었다 (P < 0.05, Fig. 2B). 감소된 공기자극 역치 값은 동측에서 나타나는 것과 유사하게 수술 후 3일부터 유의한 감소를

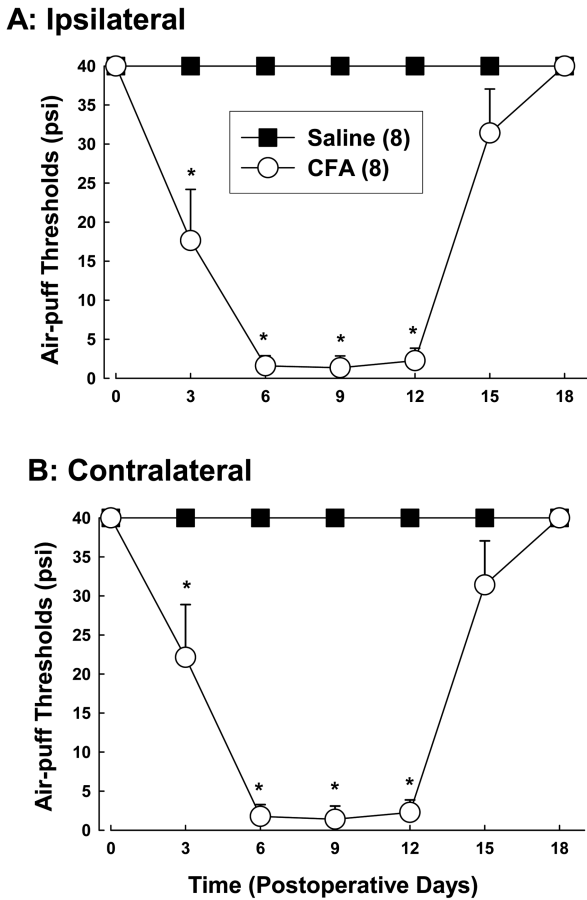


Fig. 2. Time course of change in ipsilateral (A) and contralateral (B) air-puff thresholds following injection of CFA in TMJ. Ipsilateral air-puff thresholds were significantly lower in the animals with CFA injection (n = 8) than saline injection (n = 8) group. Mechanical allodynia was produced within 3 days, persisted until 12 days, and recovered to the preoperative levels 18 days following the CFA injection. Decreased air-puff thresholds contralateral to the injection of CFA were also observed. *P < 0.05, saline vs. CFA injection in TMJ.

나타내었고 수술 후 12일째까지 지속되었다. 악관절에 CFA를 주입하여 나타나는 측두하악관절의 염증에 의해 발생하는 연관통증 전도에 중추 MAPK pathway의 영향을 확인하기 위해 p38 MAPK 억제제인 SB203580과 ERK1/2 합성을 억제하는 MEK억제제인 PD98059를 각각 처치하고 air-puff 테스트를 시행 한 결과를 Figs. 3과 4에 나타내었다. 시약을 용해하는 용매나 저농도(1 µg)의 SB203580를 소뇌연수조로 처치하면 air-puff 역치에 유의한 영향을 미치지 못하였다. 그러나 고농도인 10 µg의 SB203580을 소뇌연수조로 투여하면 CFA를 주입한 동측에서 발생하는 이질통증을 유의하게 감소시켰다(Fig. 3A). 이질통증의 억제는 약물 처치 후 3시간째에 가장 유의하게 나타났으며 이어서 시간이 지남에 따라 서서히 감소하여 24시간 쯤 약물 처치 전과 비슷한 수준으로 회복되었다. 이러한 약물의 효과는 CFA를 주입한 반대편에서도 비슷하게 나타났다(Fig. 3B). 또한 고농도(10 µg)의 PD98059를 소뇌

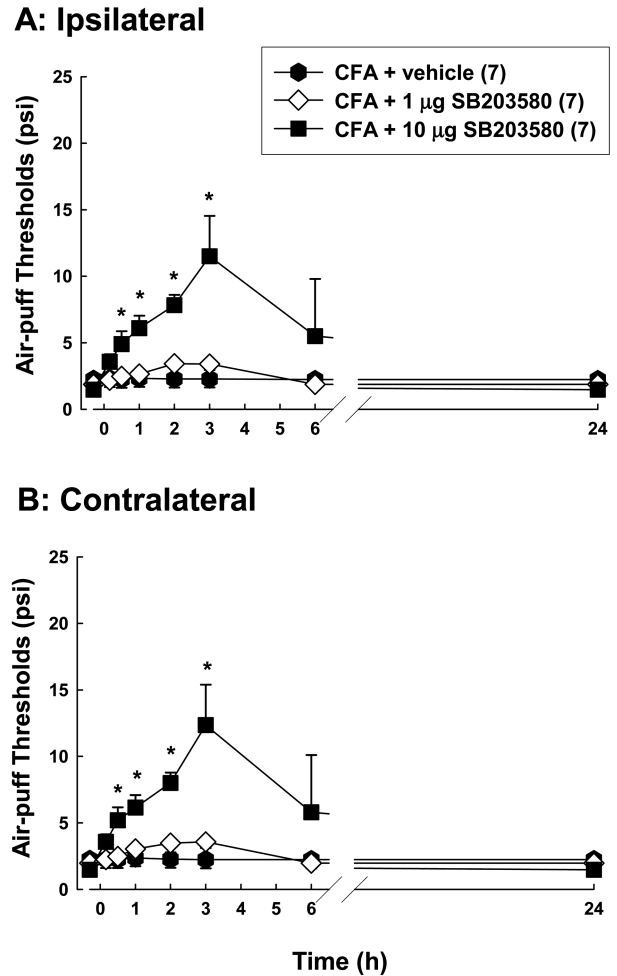


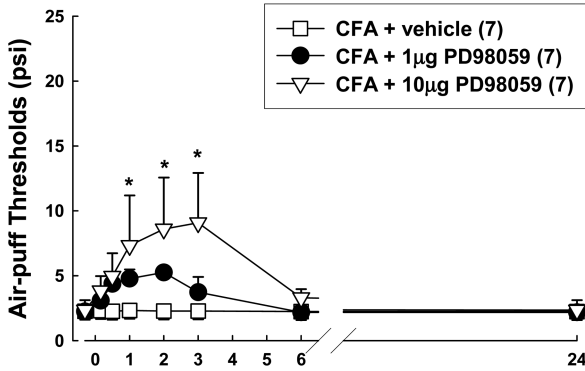
Fig. 3. The effects of an intracisternal injection of SB203580, a p38 inhibitor, on CFA-induced mechanical allodynia in the orofacial area. Air-puff thresholds ipsilateral or contralateral to the CFA injection were measured at 10, 30, 60, 120, 180, 360 min, and 24 h. The vehicle (70% DMSO and 30% sterile saline) did not affect CFA-induced mechanical allodynia. Intracisternal administration of 10 µg of SB203580 significantly reduced CFA-induced mechanical allodynia in the ipsilateral (A) and contralateral (B) side. There were 7 animals in each treatment. *p < 0.05 the vehicle- vs. SB203580-treated group.

연수조로 투여하면 CFA를 주입한 동측과 반대측에서 발생하는 이질통증을 유의하게 억제하였으며 억제효과는 3시간 쯤에 가장 크게 나타났으며 주입 후 6시간이 지나서 서서히 감소하여 약물 처치 전과 비슷한 수준으로 떨어졌다 (Fig. 4). 그러나 용매 혹은 저농도(1 µg)의 PD98059를 처치하였을 때에는 통증 반응에 유의한 영향을 주지 못하였다.

고 찰

본 실험에서는 흰 쥐의 측두하악관절에 CFA를 주입하여 염증을 유발시켰으며, 측두하악관절의 염증으로 인해 발생하는 안면부 연관통을 확인하였다. 안면피부에 발생하는 연

A: Ipsilateral



B: Contralateral

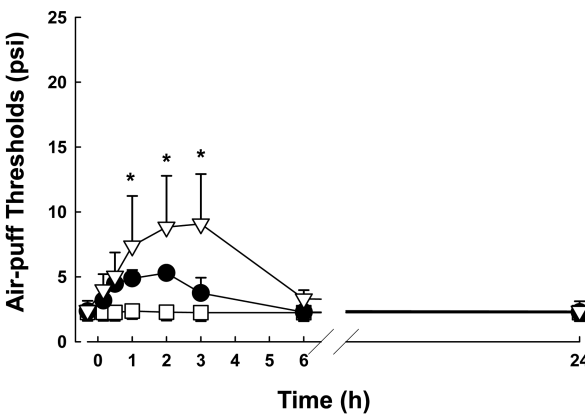


Fig. 4. The effects of an intracisternal injection of PD98059, a MEK inhibitor, on CFA-induced mechanical allodynia in the orofacial area. Air-puff thresholds ipsilateral or contralateral to the CFA injection were measured at 10, 30, 60, 120, 180, 360 min, and 24 h. The vehicle (70% DMSO and 30% sterile saline) did not affect CFA-induced mechanical allodynia. Intracisternal administration of 10 µg of PD98059 significantly reduced CFA-induced mechanical allodynia in the ipsilateral (A) and contralateral (B) side. There were 7 animals in each treatment. * $p < 0.05$ the vehicle- vs. PD98059-treated group.

관통증은 p38 MAPK와 MEK 억제제를 각각 처치함으로써 유의하게 억제시켰다.

실험 모델

측두하악관절에서 유발되는 통증은 임상적으로 흔하게 나타나는 악안면부 통증 중 하나이다. 측두하악관절 통증은 부정교합, 이갈이(bruxism) 같은 구강의 악습관(oral parafunction), 외상(trauma) 혹은 스트레스 등의 다양한 원인에 의해 나타날 수 있다(McNeill, 1997; Okeson, 1998; Oral *et al.*, 2009). 측두하악관절에서 발생하는 통증을 연구하기 위해서 formalin (Roveroni *et al.*, 2001; Ahn *et al.*, 2005; Choi *et al.*, 2005) 혹은 mustard oil (Cairns *et al.*, 1998, 2002) 등과 같은 물질들을 측두하악관절 내로 주

입하여 통증을 유발시키는 실험모델을 이용하였다. 본 연구에서는 염증유발물질 중 하나인 CFA를 측두하악관절 내로 주입함으로써 염증을 유발시켰다. 이러한 실험 모델은 Ren과 Dubner (1996)에 의해 CFA를 주입하여 악관절염증과 통증을 발생시켰다는 실험 결과와 같이 CFA를 주입하면 CFA 주입 1일째 Evans' blue 염색시약의 농도가 유의하게 증가되었다. 그러나 주입 3일째 염색약의 농도가 생리식염수를 처치한 군과 비슷하게 회복된 것으로 미루어 보아 염증반응의 지속은 CFA 주입 3일 이내인 것으로 생각된다.

TMJ에 CFA 투여 후 나타나는 연관통증

본 연구에서는 complete Freund's adjuvant를 측두하악관절 내로 주입하였을 때 염증은 1일째에 유의하게 나타났으며 염증반응은 주입 3일째 사라지는 것을 보여 주었지만, 통증은 CFA를 주입한 다음 3일째부터 나타나기 시작하여 6일째에 가장 유의하게 나타났고 12일까지 지속되었다. 따라서 측두하악관절로 주입한 CFA가 측두하악관절 염증 반응을 야기하여 안면 피부에서 연관통증을 유발시켰지만 측두하악관절 염증이 소멸된 시기인 CFA 주입 6일에서 12일까지 지속되는 것을 고려해 볼 때 측두하악관절 염증이외에 다른 요소가 연관통증 발생에 중요하게 작용한다는 사실을 말해주고 있다. 이러한 연관통증이 나타나는 기전에 대해서는 확실하게 밝혀진 바가 많지 않지만, 몇몇의 학설이 이를 설명해 주고 있다. 그 중 가장 많이 받아들여지고 있는 학설이 폭주투사설(convergence-projection theory)이다(Ruch *et al.*, 1961). 척추후각을 중심으로 말초에서 들어오는 통각섬유(1차 뉴런)의 수는 시냅스 후 뉴런(2차 뉴런)의 수보다 많으며, 이러한 차이는 말초의 여러 신경이 중추신경계의 시냅스에서 합쳐져서 상부로 전달되도록 한다(Wright, 2000)는 설명이다. 즉, 측두하악관절에 존재하는 통각섬유와 악안면부의 통각섬유가 시냅스에서 합쳐져 중추신경계로 전달이 되고, 이러한 이유로 측두하악관절의 염증이 안면 피부에서 통증을 유발시킨 것으로 보여진다. 본 연구에서는 연관통증 발생에 중추성 교세포(glia cell)이 관여하며 특히 p38 MAPK나 ERK1/2의 경로가 중요하게 작용할 것이라는 사실을 증명하기 위하여 TMJ에 CFA를 주입하여 안면 피부에 나타나는 연관통증에 p38 MAPK억제제와 MEK억제제를 투여하여 미치는 영향을 평가하였다.

거울상 통증

CFA 주입에 의해 나타나는 안면피부의 연관통증은 CFA를 주입한 반대편에서도 관찰되었다. 이와 같은 거울상 통증(mirror-image pain) 현상은 다양한 통증 모델에서 발견된다. 실험동물의 좌골신경에서 염증을 유발시켜 야기된 신경통 모델이나(Chacur *et al.*, 2001) 실험동물의 앞발에 카라기닌(carrageenan)을 주입하여 이질통(Schreiber *et al.*,

2008)을 유발시킨 동물모델에서 거울상 통증을 보고하였다. 또한 거울상 통증은 삼차신경절 압박(Ahn *et al.*, 2009a)이나 탈수초화(Ahn *et al.*, 2009b)시켜 나타나는 통증에서도 관찰되었다. 이와 같이 반대편에서 발생하는 거울상 통증이 발생하는 명백한 기전은 밝혀지지 않았지만, 몇 가지 가설이 제시되었다. 그 중 하나는 뇌간에 존재하는 양측 뇌를 연결하는 개재 뉴론에 의해 나타나는 것(Kolzenburg *et al.*, 1999)이며, 이러한 가설은 Jacquin과 Panneton 등은 연수후각에서 반대편 삼차신경 일차구심신경에서 신경 전도가 발생한다고 보고(Jacquin *et al.*, 1990; Panneton *et al.*, 1991)로 증명하였다. 최근 연구에서 거울상 통증이 척수에 존재하는 신경교세포와 pro-inflammatory cytokine 활성화 등에 의해 일어난다는 것을 보고(Milligan *et al.*, 2003) 하였으며, p38 MAPK 혹은 ERK1/2 억제제를 소뇌연수조로 전치치 하였을 때 IL-1 β 에 의해 유도된 거울상 이질통을 유의하게 감소시킨다는 것을 증명하였다(Yang *et al.*, 2005). 본 연구에서도 CFA를 주입하면 주입한 동측뿐만 아니라 반대측에서도 통증이 나타나는 거울상 이질통을 확인할 수 있었다.

중추성 MAPK 경로의 역할

Mitogen-activated protein kinase(MAPK)는 pro-inflammatory cytokine의 유도 뿐 아니라 만성통증의 진행에 있어서 중요한 역할을 한다. 이러한 사실은 포르말린 혹은 캄사이신을 흰 쥐나 마우스에 주입하여 발생하는 지속성 통증반응에서 MEK 억제제를 투여하여 ERK1/2의 생성을 억제하면 유의하게 감소한다는 사실(Ji *et al.*, 1999; Choi *et al.*, 2006; Karim *et al.*, 2006; Tsuda *et al.*, 2007; Honda *et al.*, 2008)을 통해 증명하였다. 이러한 선행 연구와 유사하게 본 연구에서도 p38 MAPK 억제제와 MEK 억제제를 투여하였을 때 측두하악관절 내에 CFA의 주입으로 나타나는 안면피부의 연관통증을 유의하게 감소시켰다. 특히 CFA에 의해 유도되는 염증은 3일째에 회복되었으나 통증은 CFA를 주입한 다음 3일째부터 나타나기 시작하여 12일까지 유의하게 지속된다는 사실은 악관절에서 발생하는 염증에 의해 발생하는 연관통증에 다른 요소가 중요하게 작용한다는 사실을 말해주고 있는데, 본 연구결과들은 중추성 MAPK 경로가 이러한 역할을 할 수 있다는 것을 설명하고 있다. 따라서 본 연구에서 제시한 중추성 MAPK 경로를 차단하였을 때 측두하악관절 염증에 의해 발생하는 연관통증을 억제할 수 있다는 것은 TMJ에 CFA를 주입하여 안면 피부에 나타나는 연관통증에 p38 MAPK 나 ERK1/2의 경로가 중요하게 작용할 것이라는 사실을 증명한다.

이상의 실험 결과들을 요약하면, CFA를 측두하악관절 내로 주입하여 악관절 염증반응을 유발하였고, 시간이 지남에 따라 안면피부에서 발생하는 연관통증이 발생하였다. 안면부에 발생하는 연관통증은 p38 MAPK 또는 MEK

억제제를 투여하였을 때 유의하게 억제되는 것으로 미루어 보아 중추성 MAPK pathway가 측두하악관절 염증에 의해 발생하는 연관통증 발생에 중요하게 작용한다는 사실을 알 수 있다. 나아가 이러한 실험 결과들은 측두하악관절장애의 이해와 치료에 도움이 될 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2008년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(314-2008-1-E00213).

참고 문헌

- Adwanikar H, Karim F, Gereau RW. Inflammation persistently enhances nociceptive behaviors mediated by spinal group I mGluRs through sustained ERK activation. *Pain*. 2004;111:125-35.
- Ahn DK, Lee SY, Han SR, Ju JS, Yang GY, Lee MK, Youn DH, Bae YC. Intratrigeminal ganglionic injection of LPA causes neuropathic pain-like behavior and demyelination in rats. *Pain*. 2009b;146:114-20.
- Ahn DK, Lim EJ, Kim BC, Yang GY, Lee MK, Ju JS, Han SR, Bae YC. Compression of the trigeminal ganglion produces prolonged nociceptive behavior in rats. *Eur J Pain*. 2009a;13:568-75.
- Boyle DL, Jones TL, Hammaker D, Svensson CI, Rosengren S, Albani S, Sorkin L, Firestein GS. Regulation of peripheral inflammation by spinal p38 MAP kinase in rats. *PLoS Med*. 2006;3:1616-24.
- Chacur M, Milligan ED, Gazda LS, Armstrong C, Wang H, Tracey KJ, Maier SF, Watkins LR. A new model of sciatic inflammatory neuritis (SIN): induction of unilateral and bilateral mechanical allodynia following acute unilateral perisciatic immune activation in rats. *Pain*. 2001;94:231-44.
- Choi SS, Seo YJ, Shim EJ, Kwon MS, Lee JY, Ham YO, Suh HW. Involvement of phosphorylated Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II and phosphorylated extracellular signal-regulated protein in the mouse formalin pain model. *Brain Res*. 2006;1108:28-38.
- Crown ED, Ye Z, Johnson KM, Xu GY, McAdoo DJ, Hulsebosch CE. Increases in the activated forms of ERK 1/2, p38 MAPK, and CREB are correlated with the expression of at-level mechanical allodynia following spinal cord injury. *Exp Neurol*. 2006;199:397-407.
- Friction JR, Kroening R, Haley D, Siebert R. Myofascial pain syndrome of the head and neck: a review of clinical characteristics of 164 patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1985;60:615-23.
- Honda K, Kitagawa J, Sessle BJ, Kondo M, Tsuboi Y, Yonehara Y, Iwata K. Mechanisms involved in an increment of multimodal excitability of medullary and upper cervical dorsal horn neurons following cutaneous capsaicin treatment. *Mol Pain*. 2008;4:59

- Huang D, Yu B. The mirror-image pain: an unclered phenomenon and its possible mechanism. *Neurosci Biobehav Rev.* 2010; 34:528-32.
- Jacquin MF, Chiaia NL, Rhoades RW. Trigeminal projections to contralateral dorsal horn: central extent, peripheral origins, and plasticity. *Somatosens Mot Res.* 1990;7:153-83.
- Ji RR, Gereau RW 4th, Malcangio M, Strichartz GR. MAP kinase and pain. *Brain Res Rev.* 2009;60:135-48.
- Ji RR, Befort K, Brenner GJ, Woolf CJ. ERK MAP kinase activation in superficial spinal cord neurons induces prodynorphin and NK-1 upregulation and contributes to persistent inflammatory pain hypersensitivity. *J Neurosci.* 2002;22:478-85.
- Ji RR, Baba H, Brenner GJ, Woolf CJ. Nociceptive-specific activation of ERK in spinal neurons contributes to pain hypersensitivity. *Nat Neurosci.* 1999;2:1114-9.
- Karim F, Hu HJ, Adwanikar H, Kaplan D, Gereau RW 4th. Impaired inflammatory pain and thermal hyperalgesia in mice expressing neuron-specific dominant negative mitogen activated protein kinase kinase (MEK). *Mol Pain.* 2006;2:2.
- Koltzenburg M, Wall PD, McMachon SB. Does the right side know what the left is doing? *Trends Neurosci.* 1999;22:122-7.
- Kumar S, Boehm J, Lee JC. p38 MAP kinases: key signalling molecules as therapeutic targets for inflammatory diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 2003;2:717-26.
- McNeill C. Management of temporomandibular disorders: concepts and controversies. *J Prosthet Dent.* 1997;77:510-22.
- Milligan ED, Twinnig C, Chacur M, Biedenkapp J, O'Connor K, Poole S, Tracey K, Martin D, Maier SF, Watkins LR. Spinal glia and proinflammatory cytokines mediated mirror-image neuropathic pain in rats. *J Neurosci.* 2003;23:1026-40.
- Obata K, Noguchi K. MAPK activation in nociceptive neurons and pain hypersensitivity. *Life Science.* 2004;74:2643-53.
- Okeson JP. Management of temporomandibular disorders and occlusion. 4th ed. St Louis: Mosby; 1998:169-71.
- Okeson JP. Orofacial pain: Guidelines for assessment, diagnosis, and management American Academy of Orofacial Pain. Chicago: Quintessence; 1996:8-10.
- Okeson JP, Bell WE. Bell's orofacial pains. 5th ed. Chicago: Quintessence; 1995:61-81, 161-2, 266-9.
- Oral K, Bal Küçük B, Ebeoğlu B, Dinçer S. Etiology of temporomandibular disorder pain. *Agri.* 2009;21:89-94.
- Panneton WM, Klein BG, Jacquin MF. Trigeminal projections to contralateral dorsal horn originate in midline hairy skin. *Somatosens Mot Res.* 1991;8:165-73.
- Ren K, Dubner R. An inflammation/hyperalgesia model for the study of orofacial pain. *J Dent Res.* 1996;75:217.
- Schreiber KL, Beitz AJ, Wilcox GL. Activation of spinal microglia in a murine model of peripheral inflammation-induced, long-lasting contralateral allodynia. *Neurosci Lett.* 2008;440:63-7.
- Tsuda M, Ishii S, Masuda T, Hasegawa S, Nakamura K, Nagata K, Yamashita T, Furue H, Tozaki-Saitoh H, Yoshimura M, Koizumi S, Shimizu T, Inoue K. Reduced pain behaviors and extracellular signal-related protein kinase activation in primary sensory neurons by peripheral tissue injury in mice lacking platelet-activating factor receptor. *J Neurochem.* 2007;102:1658-68.
- Wright EF. Referred craniofacial pain patterns in patients with temporomandibular disorder. *J Am Dent Assoc.* 2000;131:1307-15.
- Widmann C, Gibson S, Jarpe MB, Johnson GL. Mitogen-activated protein kinase: conservation of a three-kinase module from yeast to human. *Physiol Rev.* 1999;79:143-80.
- Yang CS, Jung CY, Ju JS, Lee MK, Ahn DK. Intracisternal administration of mitogen-activated protein kinase inhibitors reduced IL-1beta-induced mirror-image mechanical allodynia in the orofacial area of rats. *Neurosci Lett.* 2005;387:32-7.
- Zhang FE, Cao JL, Zhang LC, Zeng YM. Activation of p38 mitogen-activated protein kinase in spinal cord contributes to chronic constriction injury-induced neuropathic pain. *Sheng Li Xue Bao.* 2005;57:545-51.