

신경병증 백서에서 척수신경절 신경원의 Capsaicin에 대한 반응성 및 나트륨 전류의 변화

울산대학교 의과대학 서울중앙병원 마취과학교실 및 ¹경희대학교 의과대학 마취과학교실

임정길 · 임태하 · 이정락 · 김종욱 · 황재현 · 신흥일¹

= Abstract =

Response to Capsaicin and Changes in Sodium Currents in Dorsal Root Ganglion Neurons of Neuropathic Rats

Jeong Gill Leem, M.D., Tae Ha Lim, M.D., Jeong Rak Lee, M.D.
Joung Uk Kim, M.D., Jae Hyeun Hwang, M.D. and Kwang Il Shin, M.D.¹

Department of Anesthesiology, Asan Medical Center,
College of Medicine, University of Ulsan, Seoul, Korea

¹Department of Anesthesiology, College of Medicine, Kyunghee University, Seoul, Korea

Background: Allodynia, one of the most debilitating symptoms of neuropathic pain syndromes, can be defined as 'pain due to a stimulus that does not normally provoke pain'. Subsets of dorsal root ganglion (DRG) neurons involved in nociception are characteristically expressed capsaicin sensitivity and high proportion of tetrodotoxin resistant sodium current (TTX-R I_{Na}). We performed an experiment to elucidate whether nerve injury induced mechanical allodynia could be resulted from electrophysiological modulation of large, nonnociceptive afferent neurons to nociceptors.

Methods: Whole cell patch clamp recordings were made from acutely dissociated dorsal root ganglion (DRG) neurons of normal and experimental neuropathic rats. We compared the proportion of capsaicin sensitive neurons which responded to capsaicin (1 μ M) with an inward current ≥ 100 pA in amplitude and the proportion of sodium channel subtypes measured in the absence and presence of tetrodotoxin (1 μ M), in small and large DRG neurons.

Results: The proportion of capsaicin sensitive cells to total number of cells tested was not changed by nerve injury in both small and large cell populations. In large cell population of nerve injured rats, the proportion of TTX-R I_{Na} was significantly increased as compared with normal group ($p < 0.05$), and in small cell population of nerve injured rats, TTX-S I_{Na} was increased, but there was no statistical significance.

Conclusions: These data indicate that expression of the sensitivity to capsaicin in DRG neurons would not be altered by nerve injury and increased TTX-R I_{Na} in large cell population of nerve injured DRG may underlie increased excitability. (Korean J Anesthesiol 1998; 35: 259~268)

Key Words: Cells: dorsal root ganglion. Ions: sodium. Pain: neuropathic. Pharmacology: capsaicin; tetrodotoxin.

논문접수일 : 1998년 4월 3일

책임저자 : 임정길, 서울시 송파구 풍납동 388-1, 서울중앙병원 마취과, 우편번호: 138-736, Tel: 224-3868, Fax: 470-1363,

E-mail: jgLeem@www.amc.seoul.kr

*1997년도 아산생명과학연구소의 연구비 지원에 의한 것임.

서 론

유해 수용체는 온도, 기계적 또는 화학적 자극 등 다양한 유해자극에 대해 반응하며, substance P, calcitonin-gene related peptide 등의 신경펩티드를 분비하고¹⁾ 신경성장인자의 지배를 받으며²⁾ 세포체의 크기가 작은 C 혹은 A-δ형 신경원에 주로 분포한다. 전기생리학적으로는 신경전도의 속도가 느리고,³⁾ 활동전위의 지속시간이 길며 재분극기에 shoulder가^{4,5)} 있고 capsaicin(8-Methyl-N-Vanillyl-6-nonanamide)에 의해 내향성 전류(I_{Cap})가 발생하여 세포막이 탈분극되는 것으로 구분할 수 있다.^{6,7)} 성장백서의 다양성 유해수용체의 대부분은 capsaicin에 반응하며 capsaicin에 반응하는 세포들은 다른 홍분성 세포와는 달리 tetrodotoxin에 의하여 쉽게 차단되는 나트륨 전류(tetrodotoxin sensitive sodium current; TTX-S I_{Na})와 차단이 잘 되지 않는 나트륨 전류(tetrodotoxin resistant sodium current; TTX-R I_{Na})를 모두 가지고 있고^{8,9)} serotonin, adenosine, prostaglandin 등의 통증유발물질들은 TTX-R I_{Na} 의 전도도를 크게하여 세포의 홍분성을 높인다고 한다.¹⁰⁾

신경병증 통증에서 흔히 나타나는 이질통은 정상적으로는 통증을 유발하지 않는 무해한 자극을 통증으로 인식하는 것으로서, 그 기전은 명확하지 않지만 중추신경계의 퇴화나 변성,¹¹⁾ 구조적 재편성 등과¹²⁾ 같은 중추성 기전 뿐만 아니라, 신경손상후 척수신경절과 말초신경의 근위부에서 나트륨 통로를 구성하는 단백질의 합성이 증가하며 성장한 개체에서 표현되지 않는 태생기의 나트륨 통로가 발현되거나,^{13,14)} 자극이 없는 상태에서의 자발적인 활동전위 발생¹⁵⁻¹⁷⁾ 및 자극을 받은 신경원이 자극과 관계가 없는 인접한 신경원을 홍분시켜 활동전위를 발생시키는¹⁸⁾ 등의 말초성 기전에 의해서도 유발된다고 한다. 그러나 고유감각이나 촉각과 같은 무해한 자극에 반응하는 일차 구심성 신경원이 유해자극에 반응하는 유해수용체로 그 형질이 전환되어 이질통을 나타낼 가능성이 있으며 형질전환이 된 신경원은, capsaicin에 반응하고 TTX-R I_{Na} 의 비율이 커지는 등 유해수용체의 특성을 나타낼 것으로 추정할 수 있다.

본 연구에서는 백서의 제 5, 6번 척수신경 절단으

로 기계적 이질통이 유발된 개체의 척수신경절 신경원을 분리배양하여 세포체의 크기에 따른 capsaicin에 대한 반응성과 tetrodotoxin으로 분리한 나트륨 전류의 조성을 조사함으로써 정상 상태에서는 유해수용에 관계가 적은 대세포가 유해수용체의 특성을 나타내는지를 알아보려 하였다.

대상 및 방법

1) 신경병증 통증유발

체중 200~250 gm인 Sprague-Dawley rats에 Kim과 Chung의 방법을¹⁹⁾ 변형하여 좌측 제 5, 6번 요부척추신경을 절단하는 방법으로 이질통을 유발하였다. 마스크를 통하여 산소에 1~2%의 halothane을 흡입시켜 마취하고 피부를 절개하여 등근육을 일부 제거한 후 현미경하에서 L₆ 척추횡돌기와 천추부가 잘 노출되게 한다. 횡돌기 일부를 제거하여 사선방향으로 함께 주행하는 제 4, 5번 요부척수신경을 확인하면 끝이 고리모양으로 된 유리봉으로 5번 요부척수신경을 분리하여 절단하고 천추부 상단의 장풀을 바로 하방에서 6번 요부척수신경을 찾아서 절단하였다. 수술후 마취에서 회복되면 보행자세, 척추의 기형 등을 관찰하여 운동신경 손상의 징후가 보이면 실험에서 제외하였으며 발바닥의 불필요한 자극을 줄이기 위해 부드러운 깔짚을 깔아준 후 사육실로 옮겨 정상적인 생활을 하게 하였다. 수술조작 5~7일 후 von Frey hairs(Semmes-Weinstein monofilament, USA)로 기계적 자극에 대한 회피반응을 측정하여 50% 회피반응의 역치가²⁰⁾ 4 gm 이하인 경우에 이질통이 있는 것으로 하여 신경손상군에 포함시켰고 이질통이 발현되지 않은 개체는 실험에서 제외하였다.

2) 척수신경절 신경원의 분리배양

일 회의 세포배양에는 3~5마리의 개체를 사용하였으며 이질통이 발현된 신경손상군은 좌측, 정상군은 좌·우의 제 5, 6요부 척수신경절을 채취하여 기계적 방법과 효소처리로 척수신경절 신경원을 분리 배양하였다.²¹⁾ 백서의 복강내로 100 mg의 thiopental sodium을 투여하여 마취한 후 단두하여 치사시켰다. 척추의 요추부를 절단하여 phosphate buffer solution (140 NaCl, 2.7 KCl, 10 Na₂HPO₄, 1.8 KH₂PO₄; mM

단위이며 이하 PBS라 함)이 들어 있는 배양접시에서 척추궁을 절단하여 척수를 노출시키고, 해부현미경하에서 제 5, 6요부 척수신경절을 분리하여 잘게 부순 후 minimal essential media(MEM; Gibco BRL)에 3 mg/ml의 collagenase(Sigma type I)를 쉬운 용액에 넣고 37°C 수조에서 50분간 처리하였다. 침전물에 1 mg/ml의 trypsin(Sigma type II), 10 mM의 glucose가 들어있는 PBS 1~2 ml를 넣고 15분간 처리하여 collagen, 단백질 등의 조직불순물을 제거하였다. 효소 처리가 끝나면 trypsin용액의 2배 용적에 해당하는 trypsin억제 용액(trypsin inhibitor 0.4 mg/ml, DNase I 10 µg/ml, 2.7 mM MgSO₄, 10 mM glucose, 10% fetal bovine serum이 들어 있는 PBS)을 넣어 3~4회 혼들어 준후 250×g로 5분간 원심분리를 하여, 상층액을 제거하고 남은 침전물에 분쇄용액(trituration solution; trypsin inhibitor 0.4 mg/ml, DNase I 80 µg/ml, 2.7 mM MgSO₄, 1.3 mM CaCl₂, 10 mM glucose가 들어 있는 PBS)을 넣고, 끝단을 가늘게 만든 pasteur pipette으로 4~5회 분쇄한 한 후, 250×g로 5분간 원심분리를 하였다. 침전물을 MEM에 2.6 mM NaHCO₃ 와 10 mM HEPES를 추가한 배양액으로 희석하여 poly-L-lysine(Sigma)을 바른 35×10 mm 크기의 배양접시에 200 µl씩 넣고 95% 산소와 5% 이산화탄소로 환류되는 보온기에서 1~2시간 방치하여 세포가 바닥에 붙으면 2 ml의 배양액을 추가로 넣어 준후 보온기에서 배양하였다.

3) 척수신경절 신경원의 전기생리학적 반응

분리배양한 척수신경절 신경원은 24시간 이내에 전기생리학적 반응을 보기 위한 폐치고정에 사용하였다. 미세전극은 외경 1.5 mm의 유리모세관(WPI, USA)을 수직형 puller(Narischige, Japan)에서 뽑아 미세전극 총전액을 채웠을 때의 저항이 3~6 MΩ이 되는 것을 사용하였다. 배양한 세포를 1~2 ml의 세포외액으로 2회 세척한 후 약 1 ml의 세포외액을 넣고 도립형 현미경(Olympus LH50A, Olympus Optical Ins LTD, Japan)의 400배 시야에서 미세조작기에 연결된 전극을 세포에 접근, 접촉시켜 gigaseal이 형성되면 음압을 가하여 세포막을 터뜨리는 방법으로 whole-cell mode의 폐치고정을 시행하였다. 나트륨 전류를 보기 위한 세포외액의 기본조성은 mM 단위로서 80 NaCl, 60 Choline-Cl, 3 CsCl₂, 2.5 CaCl₂,

2 MgCl₂, 10 D-glucose, 5 HEPES로 하였으며 NaOH를 사용하여 pH가 7.4가 되게 하였다. 폐치고정 이후 CaCl₂를 10 µM로 낮춘 용액으로 관류하여 전체 나트륨 전류(Total I_{Na})를 기록하였으며 이후에는 NaCl을 동일 농도의 choline-chloride로 대체하고 CaCl₂를 10 µM로 낮춘 용액으로 관류하여 나트륨 전류가 소실되는 것을 확인하였다. 미세전극 총전액은 mM 단위로서 10 NaCl, 120 CsCl, 1 Ca₂Cl, 1 MgCl₂, 10 EGTA, 40 HEPES, 5 Na₂ATP, 0.5 Na₂GTP로 하였으며 CsOH를 사용하여 pH를 7.2가 되게 하였다. Capsaicin의 민응성을 보기 위한 세포외액의 조성은 mM 단위로서 145 NaCl, 5 KCl, 2 MgCl₂, 2 CaCl₂, 10 D-glucose, 10 HEPES로 하였으며 NaOH를 사용하여 pH가 7.4가 되게 하였다. 미세전극 총전액의 조성은 mM 단위로서 140 KCl, 1 Ca₂Cl, 2 MgCl₂, 10 EGTA, 10 HEPES, 5 Na₂ATP, 0.5 Na₂GTP로 하였으며 KOH를 사용하여 pH를 7.2가 되게 하였다. 4-pole vessel filter에서 자료수집 빈도의 2~4 배로 여과된 자료를 A-D converter(Digidata 1200, Axon Instrument, Germany)로 수치화하여 pClamp6 소프트웨어로 개인용 컴퓨터에 기록 저장하였다가 분석하였다.

폐치고정에 사용한 척수신경절 신경원은 직경이 25 µm 이하인 것을 소세포로, 25~50 µm인 것을 대세포로 분류하였고, 직경이 50 µm 이상이거나 막전기용량이 100 pF를 넘는 세포 및 세포막 파열후 입력저항이 500 MΩ 이하인 세포는 자료분석대상에서 제외하였다. 폐치고정이 된 세포는 CaCl₂가 10 µM로 적게 들어 있는 용액으로 관류한 후 막전압을 -90 mV로 고정하고 0 mV로 20 ms동안 탈분극시키는 수직형 펄스를 10초 간격으로 가하여 Total I_{Na} 를 측정하였다. 그 후 1 µM의 tetrodotoxin을 투약하여 동일 자극에 의한 TTX-R I_{Na} 를 기록하고 Total I_{Na} 에서 TTX-R I_{Na} 감하여 TTX-S I_{Na} 를 구하였다. 나트륨 전류를 측정한 후에는 capsaicin용액으로 관류하여 막전압을 -60 mV로 고정한 후 1 µM의 capsaicin을 투약하여 내향성 전류의 발생유무를 관찰하였다. 나트륨 전류와 capsaicin을 투약하여 발생하는 내향성 전류는 동일세포에서 측정하였고 이와는 별도로 정상군의 일부 세포는 전류고정법을 시행하여 capsaicin에 의한 막전압의 탈분극 및 활동전위의 변화양상을 관찰하였다. 전류고정에서 활동전위는 50 pA씩 증가하는 10초동안의 수직형 펄스를 최대 250

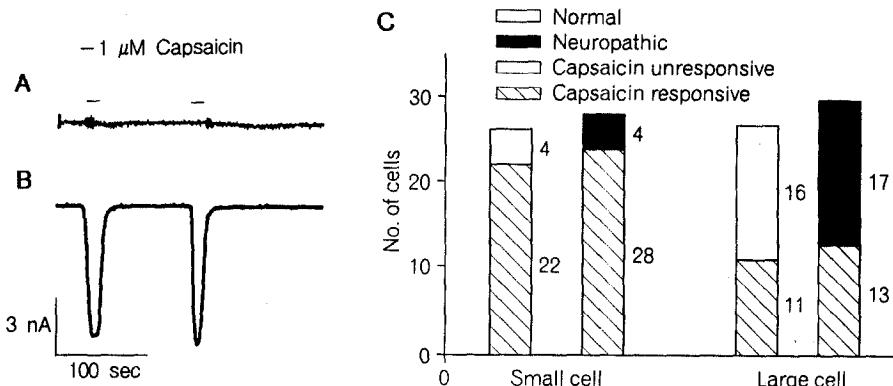


Fig. 1. Responses to capsaicin in DRG neurons are shown. Application of 1 μ M capsaicin had no effect on holding current in an unresponsive large cell(A), but in a responsive small cell, large inward current was produced by the same concentration of capsaicin(B). The proportion of capsaicin sensitive cells to total number of cells tested was not changed by nerve injury in both small and large cell populations(C).

pA까지 가하여 유발하였고 활동전위의 연속발사를 보기 위해서 1 nA로 200 ms동안 지속적인 전류를 가하였다. 세포에 투약한 capsaicin은 10 mM로 ethanol에, tetrodotoxin(Sigma, USA)은 1 mM로 종류수에 녹인 후 세포외액으로 회석하여 사용하였으며 ethanol의 최종농도는 0.01% 이하가 되게 하였다.

탈분극자극으로 발생하는 I_{Na} 와 capsaicin 투약으로 발생하는 I_{Cap} 는 내향성 전류의 최대치를 막전기용량으로 나눈 전류밀도(pA/pF)로 환산하여 자료분석을 하였으며 대세포와 소세포에 있어서 정상군과 신경손상군 간의 전류밀도 비교에는 t-test를 적용하고, capsaicin에 반응하는 세포의 빈도비교에는 χ^2 -test를 적용하여 p값이 0.05 미만인 경우 통계적 유의성이 있는 것으로 정의하였으며 각각의 실험결과들은 mean \pm S.E.로 나타내었다.

결 과

폐치고정후 막전압을 -60 mV로 유지하고 1 μ M의 capsaicin을 투약하여 100 pA 이상의 내향성 전류가 발생하는 세포를 capsaicin에 대한 반응성이 있는 것으로 분류했을 때 capsaicin에 반응하는 세포의 비율은 소세포가 82%이고 대세포가 42%이었다. 그러나 소세포와 대세포에서 capsaicin에 반응하는 세포의 비율은 정상군과 신경손상군 간에 차이가 없었다(Fig. 1). 소세포에서 발생한 내향성 전류 밀도의

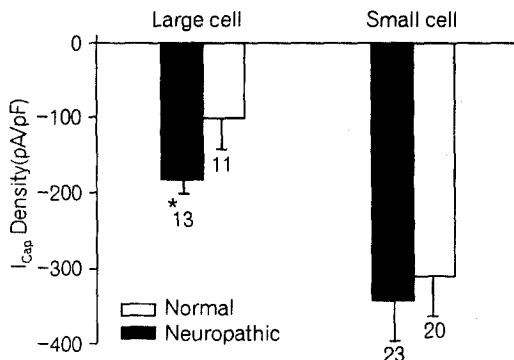


Fig. 2. Data represents current density evoked by 1 μ M capsaicin in responsive cells. Current density was increased in nerve injured large cell population, but not in small cells. Values are expressed as mean \pm SEM. Asterisk represents significant difference as compared with normal cell group($p < 0.05$).

최대치는 정상군과 신경손상군의 차이가 없으나 대세포에서는 신경손상군이 -182 ± 15.2 pA/pF로서 정상군의 -98.6 ± 37.3 pA/pF보다 유의하게 높았다(Fig. 2, $p < 0.05$). Capsaicin이 세포막전압에 미치는 영향을 보기 위한 실험에서, 전류자극을 가하지 않고 100 nM 이상으로 고농도의 capsaicin을 투약하면 0 mV 전후로 막전압이 탈분극되나 자발적인 활동전위는 발생하지 않았다($n=7$, Fig. 3A). 그러나 30 nM의 capsaicin을 투약한 세포에서는 막전압이 서서히

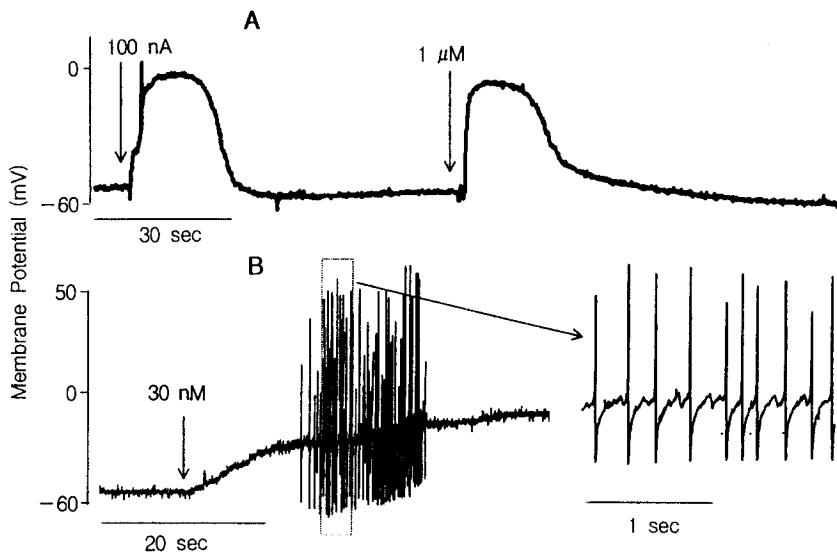


Fig. 3. Membrane potential changes elicited by various concentration of capsaicin are shown. Higher concentration of capsaicin resulted in membrane potential depolarization devoid of action potential discharge(A), but lower concentration of capsaicin resulted in spontaneous action potential discharge(B).

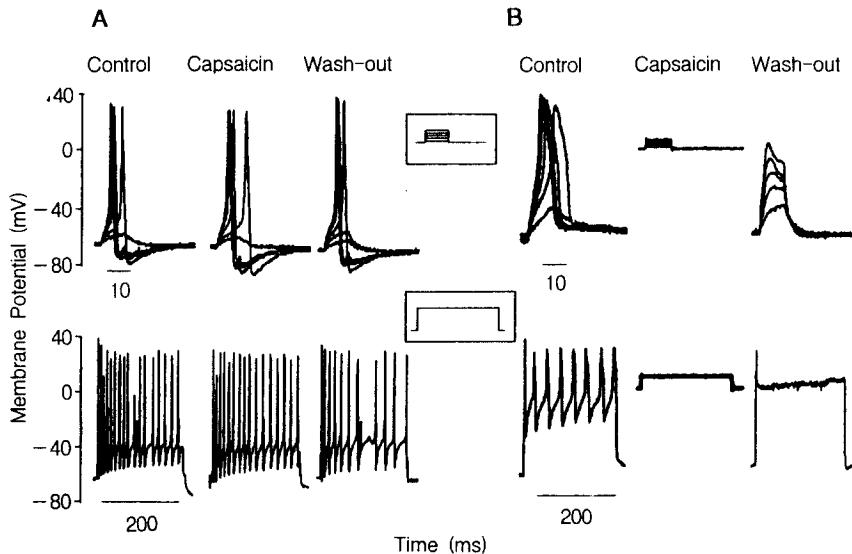


Fig. 4. Effects of capsaicin on the action potential firing patterns of DRG neurons are shown. Insets represent applied current protocols. Action potentials were evoked by current pulses differed by 50 pA(upper) and 1 nA of sustained current pulse(lower). In capsaicin unresponsive large cells(A), capsaicin($1 \mu\text{M}$) had no effect on the action potential parameters(upper) and cellular excitability(lower), but in capsaicin responsive small cells(B), the same concentration of capsaicin inhibited action potential generation(upper) and cellular excitability(lower) even after 5 min wash-out.

Table 1. Sodium Current Density of Sodium Channel Sub-types Separated by 1 μ M Tetrodotoxin

| Cell size | Group | TTX-R I_{Na} (pA/pF) | TTX-S I_{Na} (pA/pF) |
|-----------|-----------------|------------------------|------------------------|
| Small | Normal(19) | -159.2 ± 30.6 | -77.1 ± 27.8 |
| | Neuropathic(20) | -173.3 ± 28.2 | -125.1 ± 48.5 |
| Large | Normal(23) | -39.6 ± 9.3 | -107.8 ± 11.3 |
| | Neuropathic(20) | $-86.6 \pm 46.6^*$ | -68.2 ± 13.8 |

Values are expressed by mean \pm SEM.

TTX-R I_{Na} ; tetrodotoxin-resistant sodium current, TTX-S I_{Na} ; tetrodotoxin-sensitive sodium current.

*statistically significant as compared with normal large cell group ($p < 0.05$).

탈분극되다가 자발적인 활동전위가 발생하였다($n=3$, Fig. 3B). 척수신경절 신경원은 흥분성 세포이므로 전류고정상태에서 10 ms동안 50 pA씩 증가하는 펄스형 전류자극을 하면 역치전류 이상에서 활동전위가 발생하며, 전류의 크기가 증가하여도 활동전위의 역치전압, 최대진폭 및 지속시간이 변하지 않는다. 또 1 nA로 200 ms동안 지속적인 자극을 하면 연속적인 활동전위가 발생한다. Capsaicin에 반응하지 않는 대세포에서는 capsaicin을 투여하여도 막전압의 변동이 없고 활동전위가 발생하며 활동전위의 지표에도 변화가 없다(Fig. 4A). 그러나 capsaicin에 반응하는 소세포에서는 capsaicin에 의해 막전압이 탈분극되어 나트륨 통로가 불활성화됨으로써 펄스형이나 지속적인 전류자극을 하여도 활동전위가 발생하지 않을 뿐만 아니라 세포외액으로 관류한 후에도 활동전위의 발생이 억제되어 있었다(Fig. 4B).

전압고정이 된 세포의 막전압을 -90 mV로 유지하면서 칼슘 이온이 적은 용액으로 관류한 후 0 mV로 탈분극시키면 나트륨 이온에 의한 내향성 전류가 발생한다. 나트륨 전류밀도의 최대치는 정상군과 신경손상군의 소세포와 대세포간에 차이가 없었다. 나트륨 전류의 아형(subtype)을 분리하기 위하여 1 μ M의 tetrodotoxin으로 처리한 후에 나타나는 TTX-R I_{Na} 는 소세포에서는 정상군과 신경손상군 간에 차이가 없었으나 대세포에서는 신경손상군이 -86.6 ± 12.7 pA/pF로 정상군의 -39.6 ± 9.3 pA/pF보다 유의하게 증가하였다(Fig. 5, Table 1, $p < 0.05$). 또 통계적 유의성은 없었으나 TTX-S I_{Na} 는 소세포에서는 신경손상군이 정상군보다 증가하였고($P=0.38$) 대세포에서는 신경손상군이 정상군보다 감소하였다($P=0.06$).

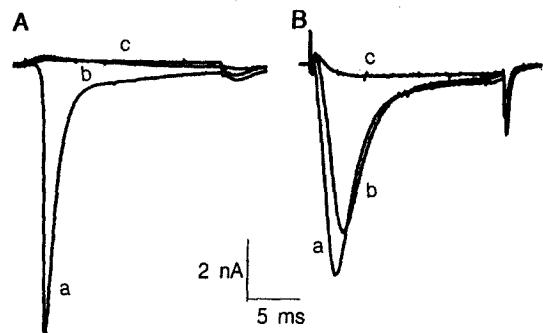


Fig. 5. This figure shows whole cell Na^+ currents recorded during 20 ms voltage step from the holding potential of -90 mV to a test potential of 0 mV. In a large cell, sodium current was completely blocked by 1 μM tetrodotoxin(A), but in a small cell, sodium current was partly blocked by the same concentration of tetrodotoxin(B). a; low calcium, sodium containing superfusate (Total I_{Na}), b; after applying 1 μM tetrodotoxin(TTX-R I_{Na}), c; after switching to low Na^+ superfusate.

고찰

척수신경절에는 조직손상을 주지 않는 고유감각, 촉각, 압각 등의 무해한 자극과 화학물질, 열, 조직손상 등의 통증유발요인에 반응하는 일차 구심성 신경원의 세포체가 모여있다. 그 중 대세포는 근방추와 건의 Golgi 장치로부터 오는 정보를 전달하는 수초형성이 많고 신경전도속도가 빠른 $A\alpha$, $A\beta$ 섬유이고, 수초형성이 없고 진하게 염색되는 소세포는 C 섬유로서 다양성 유해수용체에 해당하며, 수초형

성이 적은 A δ 세포는 대세포와 소세포의 중간특성을 갖는다고 한다. 세포체의 크기와 반응하는 자극, 신경전도속도 및 세포체의 막전기용량 사이에는 중복되는 부분이 없지는 않으나 상관관계가 있는 것으로 알려져 있다.^{3,22)} 일차구심성신경원 중 소세포는 신경말단에서 분비하는 신경성장인자에 의하여 합성이 조절되는 것으로 알려진 substance P, calcitonin-gene related peptide 등의 신경펩티드를 보유하고 있다.^{23,24)} 이러한 세포들이 capsaicin에 의해 자극을 받게되면 중추와 말초로 신경펩티드를 유리하여 중추로는 통증이 전달되고 말초로는 신경인성 염증을 초래한다.⁶⁾ 세포체의 크기가 작고 신경펩티드를 보유하며 capsaicin에 반응하는 세포들은 신경전도의 속도나 활동전위의 모양이 C 혹은 A δ 섬유와 같고 bradykinin, substance P, prostaglandin E₂, capsaicin 등의 통증유발물질에 반응하여 활동전위가 발생하므로 이러한 세포들이 유해수용에 관여한다고 할 수 있다.^{6,7,25,26)}

전압의존성 나트륨 통로는 홍분성세포의 활동전위 발생의 탈분극기에 중요한 역할을 하며 활동전위 발생의 역치 및 연속발사의 빈도 뿐만 아니라²⁷⁾ 신경손상후 초래되는 과홍분상태에도 관련되어 있다.²⁸⁾ 척수신경절 신경원에는 전압변화에 대한 활성 및 불활성의 역동학과 tetrodotoxin의 차단작용에 대한 감수성에 의해 구분되는 두가지 이상의 나트륨 통로가 존재하는 것으로 알려져 있다.^{29,30)} 재분극기에 굽절이 없고 지속시간이 짧은 대세포의 활동전위는 100 nM의 tetrodotoxin에 의해 완전히 차단되지만, 지속시간이 길고 안정시 막전압에서 발생하는 소세포의 활동전위는 동일 농도의 tetrodotoxin에 의해 영향을 받지 않는다.³¹⁾ 또 TTX-S I_{Na} 는 대세포에 많고 활성화되는 속도가 빠르며 나트륨 통로의 50%가 불활성화되는 막전압과 나트륨 통로의 50%를 억제하는 tetrodotoxin의 농도가 각각 -75 mV와 60 nM인데 비해서, TTX-R I_{Na} 는 소세포에 많으며 활성화되는 속도가 느리고 나트륨 통로의 50%가 불활성화되는 막전압과 나트륨 통로의 50%를 억제하는 tetrodotoxin의 농도가 각각 -25 mV와 1.1 μ M이라고 한다.³²⁾ Capsaicin에 반응하는 일차 구심성 신경원은 TTX-S I_{Na} 와 TTX-R I_{Na} 가 모두 존재하며^{8,9)} 그 중 TTX-R I_{Na} 는 중추신경계 내의 다른 신경원에서 드물게 표출되는 것으로서 신경펩티드처럼 신경

성장인자에 의하여 유도되며²⁹⁾ capsaicin에 대한 반응성과 함께 유해수용체를 구분하는 중요한 특성이 된다고 한다.⁷⁾ 척수신경절 신경원의 안정시 막전압인 -50~-60 mV에서는 TTX-S I_{Na} 는 대부분 불활성화되어 있기 때문에 신경손상이나 말초성 감작이 없는 상황에서는 활동전위의 발생에 크게 기여하지 못하므로 TTX-R I_{Na} 에 의해 활동전위의 역치가 결정된다고 할 수 있다. Serotonin, adenosine, prostaglandin 등의 통증유발물질들은 TTX-R I_{Na} 의 전도도를 크게하여 활동전위의 역치를 낮추고 나트륨 전류의 크기를 증폭시켜 세포막의 탈분극이 신속히 일어나게 하며, TTX-R I_{Na} 의 불활성 속도를 빠르게 하여 재분극을 촉진함으로써 활동전위간 간격(inter-spike interval)을 감소시켜 지속적 자극에 의한 단위 시간당 활동전위의 발생수를 증가시키는 기전으로 세포의 홍분성을 높인다고 한다.¹⁰⁾

신경손상후의 이질통과 통각과민을 일으키는 원인으로는, 유해수용체의 척수부 말단이 분포하는 척수후각의 연변부(lamina I, II)가 유해수용체의 지속적인 자극으로 홍분성 독작용을 받아 퇴화하며,¹⁷⁾ 정상적으로는 척수후각의 내측(lamina III, IV)에 분포하고 있던 유수신경인 A β 신경섬유 말단이 연변부인 lamina II로 자라 들어가는 구조적인 재편성으로 A 신경섬유에 의한 통증발생 등의¹⁸⁾ 중추성 기전이 있다. 그러나 말초에서도 변화가 수반되어 척수신경절과 말초신경의 근위부에서 나트륨 통로를 구성하는 단백질의 합성이 증가하고 나트륨 통로의 전도도가 증가하여 손상부의 홍분성이 증가하며²⁸⁾ 성장한 개체에서 표현되지 않는 태생기의 나트륨 통로가 발현되어^{11,12)} 자발적인 활동전위가 발생하거나,^{13~15)} 자극을 받지 않은 인접한 신경원에 활동전위를 발생시키기도 하며,¹⁶⁾ 혈관주위에 분포한 노르아드레날린성 교감신경이 척수신경절로 자라들어감으로써 교감신경 홍분에 의해 척수신경절 신경원이 활성화되기도¹³⁾ 한다. 어느 경우이던 이질통이나 통각과민이 개시되기 위해서는 유해수용체인 A δ , C 신경섬유가 지속적으로 활성화되어 강력한 신경펩티드가 중추로 분비되어야 하며 이는 substance P 수용체를 가진 척수후각 연변부 신경원이 파괴되었을 경우에 통각과민이나 이질통이 발생하지 않는 것으로 확인할 수 있다.³⁴⁾

Capsaicin은 A δ 나 C 형의 다양성 유해수용체만을

선택적으로 자극하여 구심성 및 원심성 작용을 동시에 나타내기 때문에 일차구심성 신경원의 자극작용과 감각에 의한 통각파민, 이질통 및 탈감작에 의한 진통효과를 검증하는 연구분야에서 자주 활용된다.^{35~37)} 전기생리학적인 측면에서 진통이나 통각파민은 세포홍분성과 관련이 있으며 이는 역치전압, 역치전류, 지속시간, 후파분극 및 연속발사 등과 같은 활동전위 지표들의 변화로 알 수 있다. 유해수용체가 주로 분포하는 소세포에 capsaicin을 투약하면 내향성 전류가 발생하고 그에 따라 막전압이 탈분극된다. 또 투약 후 세포외액으로 관류하여 capsaicin을 제거한 후에도 활동전위의 모양은 capsaicin을 투약하기 전 수준으로 회복되지 않으므로 세포홍분성이 장시간 억제됨을 알 수 있다. 따라서 capsaicin은 투약 초기에는 통증을 유발하지만 시간이 경과한 후에는 진통작용을 나타낸다고 볼 수 있다.

본 실험에서 직경이 50 μm 보다 큰 세포는 막전기 용량이 100 pF 이상을 나타내어 그 보정이 어렵기 때문에 실험대상에서 제외하였으나 직경이 50 μm 이하로 막전기 용량의 보정이 가능한 정상군의 43개의 세포 중 capsaicin에 반응하여 내향성 전류가 발생된 세포는 주로 소세포군에 분포하고 있으므로 capsaicin이 유해수용체에 주로 작용함을 알 수 있으며 이는 이전의 연구결과와 비슷하였다.³⁸⁾ 또 capsaicin에 반응하여 내향성 전류가 발생한 대세포의 비율은 신경손상군과 정상군 간에 차이가 없었으므로 축각이나 고유감각을 전달하는 구심성 신경원이 유해수용체로 형질이 전환되어 이질통이 발생한 것으로 볼 수 없다. 신경손상군의 대세포에서 capsaicin에 의한 내향성 전류의 최대치가 정상군보다 높았던 것은 신경이 절단되어 말초로부터 역행성으로 전달되는 신경성장인자의 공급이 차단되었으므로 capsaicin으로 개폐되는 이온 통로의 합성이 증가되었다기보다는 이온 통로의 전도도가 증가된 결과로 추측된다. 신경손상 후 대세포에서는 Total- I_{Na} 의 변화없이 TTX-R I_{Na} 의 비율이 높아지고, 소세포에서는 통계적 유의성은 없었으나 Total I_{Na} 와 TTX-S I_{Na} 가 증가하고 TTX-R I_{Na} 가 감소하여 상반된 결과를 나타내었다. 이는 대세포의 나트륨 전류가 신경손상으로 인해 유해수용체의 나트륨 전류와 유사하게 바뀌었음을 의미하며 유전자유도에 의해 TTX-R I_{Na} 의 합성이 증가한 것인지 아니면 통로의 전도도 증가에

기인한 것인지는 본 연구만으로는 설명하기 어렵다. 또 신경손상 후 소세포에서는 TTX-S I_{Na} 의 비율이 증가하였으므로 활동전위의 역치가 낮아질 것으로 추정되며, 이는 정상적으로는 통증을 유발하지 않는 약한 자극에 대해서도 통증을 인식하는 통각파민 현상의 이론적 배경이 될 수 있다. 그러나 TTX-S I_{Na} 의 상당부분은 척수신경절 신경원이 나타내는 안정시 막전압에서는 불활성화된 상태로 존재하므로³¹⁾ 활동전위발생의 탈분극초기에만 영향을 미칠 수 있기 때문에, 활동전위의 지속시간이나 연속발사 등 세포홍분성의 증가와 직접적으로 관련된다고 보기 어렵다. 따라서 Petersen등의¹⁵⁾ 연구결과와 같이 신경손상 후 척수신경절 신경원의 소세포에서 홍분성이 증가하기 위해서는 TTX-S I_{Na} 의 전압에 따른 활성 및 불활성의 역동학, 재분극에 관여하는 칼륨 통로와 활동전위의 자발 혹은 연속발사에 관련된 칼슘 통로 등의 특성변화가 동반되었을 가능성이 있으며 이에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

이상과 같이 신경손상으로 이질통이 유발된 개체의 척수신경절 신경원 중 대세포에서 capsaicin에 반응하는 세포의 비율이 증가되어 있지 않으므로 무해자극에 반응하는 일차구심성신경원이 유해자극에 반응하는 유해수용체로 형질이 전환되어 이질통이 초래되는 것으로 볼 수 없으며, 소세포와 대세포에서 나타난 나트륨 전류의 조성변화에 대해서는 생리학적 의미를 규명하여야 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Gold MS, Dastmalchi S, Levine JD: Co-expression of nociceptor properties in dorsal root ganglion neurons from the adult rat *in vitro*. *Neuroscience* 1996; 71: 265-75.
- Aguayo LG, White G: Effects of nerve growth factor on TTX- and capsaicin-sensitivity in adult rat sensory neurons. *Brain Res* 1992; 570: 61-7.
- Harper AA, Lawson SN: Conduction velocity is related to morphological cell type in rat dorsal root ganglion neurones. *J Physiol* 1985; 359: 31-46.
- Fulton B: Postnatal changes in conduction velocity and soma action potential parameters of rat dorsal root ganglion neurons. *Neurosci Lett* 1987; 73: 125-30.
- Harper AA, Lawson SN: Electrical properties of rat

- dorsal root ganglion neurones with different peripheral nerve conduction velocities. *J Physiol* 1985; 359: 47-63.
6. Bevan S, Szolcsanyi J: Sensory neuron specific actions of capsaicin: mechanisms and applications. *Trends Pharmacol Sci* 1990; 11: 330-3.
 7. Arbuckle JB, Docherty RJ: Expression of tetrodotoxin-resistant sodium channels in capsaicin-sensitive dorsal root ganglion neurons of adult rats. *Neurosci Lett* 1995; 185: 70-3.
 8. Wadell PJ, Lawson SN: Electrophysiological properties of subpopulations of rat dorsal root ganglion neurons *in vitro*. *Neuroscience* 1990; 36: 811-22.
 9. Honmou O, Ultzschneider DA, Rizzo MA, Bowe CA, Waxman SG, Kocsis JD: Delayed depolarization and slow sodium currents in cutaneous afferents. *J Neurophysiol* 1994; 71: 1627-37.
 10. Gold MS, Reichling DB, Shuster MJ, Levine JD: Hyperalgesic agents increase a tetrodotoxin-resistant Na^+ current in nociceptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 1108-12.
 11. Nacheron AK, Bennett GJ: Does pain damage spinal cord neurons? transsynaptic degeneration in rat following a surgical incision. *Neurosci Lett* 1993; 162: 78-80.
 12. Woolf CJ, Shortland P, Cogeshall RE: Peripheral nerve injury triggers central sprouting of myelinated afferents. *Nature* 1992; 355: 75-8.
 13. Waxman SG, Kocsis JD, Black JA: Type III sodium channel mRNA is expressed in embryonic but not adult spinal sensory neurons, and is reexpressed following axotomy. *J Neurophysiol* 1994; 72: 466-70.
 14. Devor M, Govrin-Lippmann R, Angelides K: Na^+ channel immunolocalization in peripheral mammalian axons and changes following nerve injury and neurofibroma formation. *J Neurosci* 1993; 13: 1976-92.
 15. Kajandar KC, Wakisaka S, Bennett GJ: Spontaneous discharge originates in the dorsal root ganglion at the onset of a painful peripheral neuropathy. *Neurosci Lett* 1992; 138: 225-8.
 16. LaMotte RH, Zhang JM, Petersen M: Alterations in the functional properties of dorsal root ganglion cells with unmyelinated axons after a chronic nerve constriction in the rat. *Prog Brain Res* 1996; 110: 105-11.
 17. Petersen M, Zhang J, Zhang JM, LaMotte RH: Abnormal spontaneous activity and responses to norepinephrine in dissociated dorsal root ganglion cells after chronic nerve constriction. *Pain* 1996; 67: 391-7.
 18. Devor M, Wall PD: Cross-excitation in dorsal root ganglia of nerve-injured and intact rats. *J Neurophysiol* 1990; 64: 1733-46.
 19. Kim SH, Chung JM: An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 1992; 50: 355-63.
 20. Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL: Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Methods* 1994; 53: 55-63.
 21. 임정길, 김종우, 신진우, 황규삼, 이청, 한성민: 백서의 척수신경절 신경원에서 epinephrine이 전압의존성 Na_v , Ca 통로와 세포흥분성에 미치는 영향 및 tetracaine과의 상호작용. 대한마취과학회지 1998; 34: 18-26.
 22. McLean MJ, Bennett PB, Thomas RM: Subtypes of dorsal root ganglion neurons based on different inward currents as measured by whole-cell voltage clamp. *Mol Cell Biochem* 1988; 80: 95-107.
 23. Donnerer J, Schuligoi R, Stein C: Increased content and transport of substance P and calcitonin-gene related peptide in sensory nerves innervating inflamed tissue: evidence for a regulatory function of nerve growth factor *in vitro*. *Neuroscience* 1992; 49: 693-8.
 24. Kachiba H, Ueda Y, Senba E: Systemic capsaicin in the adult rat differentially affects gene expression for neuropeptides and neurotrophin receptors in primary sensory neurons. *Neuroscience* 1997; 76: 209-312.
 25. Lawson SN, McCarthy PW, Prabhakar E: Electrophysiological properties of neurones with CGRP-like immunoreactivity in rat dorsal root ganglia. *J Comp Neurol* 1996; 365: 355-66.
 26. Noda K, Ueda Y, Suzuki K, Yoda K: Excitatory effects of analgesic compounds in murine dorsal root ganglion cell culture. *Brain Res* 1997; 751: 348-51.
 27. Matzner O, Devor M: Na^+ conductance and the threshold for repetitive neuronal firing. *Brain Res* 1992; 597: 92-8.
 28. Matzner O, Devor M: Hyperexcitability at sites of nerve injury depends on voltage sensitive Na^+ channels. *J Neurophysiol* 1994; 72: 349-59.
 29. Ogata N, Tatebayashi H: Ontogenetic development of the TTX-sensitive and TTX-insensitive Na^+ channels in neurons of the rat dorsal root ganglia. *Neurosci Lett* 1992; 121: 88-99.
 30. Schwartz A, Palti Y, Meiri H: Structural and developmental differences between three types of Na^+ channels in dorsal root ganglion cells of newborn rats. *J Membr Biol* 1990; 116: 117-28.
 31. Caffrey JM, Eng DL, Black JA, Waxman SG, Kocsis JD: Three types of sodium channels in adult rat dorsal

- root ganglion neurons. *Brain Res* 1992; 592: 283-97.
32. Omri G, Meiri H: Characterization of sodium current of mammalian sensory neurons cultured in serum-free defined medium with and without nerve growth factor. *J Membr Biol* 1990; 115: 12-29.
33. McLachlan EM, Jang W, Devor M, Michaelis M: Peripheral nerve injury triggers noradrenergic sprouting within dorsal root ganglia. *Nature* 1993; 363: 543-6.
34. Mantyh PW, Rogers SD, Honore P, Allen BJ, Ghilardi JR, Daughters RS, et al: Inhibition of hyperalgesia by ablation of lamina I spinal neurons expressing the substance P receptor. *Science* 1997; 278: 275-9.
35. Eisenach JC, Hood DD, Cury R, Tong C: Alfentanyl, but not amitriptyline, reduces pain, hyperalgesia, and allodynia from intradermal injection of capsaicin in humans. *Anesthesiology* 1997; 86: 1279-87.
36. Sluka KA: Blockade of calcium channels can prevent the onset of secondary hyperalgesia and allodynia induced by intradermal injection of capsaicin in rats. *Pain* 1997; 71: 157-64.
37. Wallace MS, Latin S, Lich D, Yaksh TL: Concentration-effect relations for intravenous lidocaine infusions in human volunteers: effect on acute sensory thresholds and capsaicin-evoked hyperpathia. *Anesthesiology* 1997; 86: 1262-72.
38. Del Mar LP, Cardenas CG, Scroggs RS: Capsaicin preferentially affects small-diameter acutely isolated rat dorsal root ganglion cell bodies. *Exp Brain Res* 1996; 111: 30-4.
-