흰쥐에서 척수강내 투여한 Ketamine 이성체가 포르말린 자극 반응과 척수내 c-fos 발현에 미치는 영향

가톨릭대학교 의과대학 마취과학교실

안명자 · 정동석 · 정현주 · 김종분
한영문 · 김현숙 · 민상훈

= Abstract =

The Effects of Intrathecal Ketamine Isomers on Formalin-Evoked Behavior and Spinal c-fos Expression in Rat

Myung Ja Ahn, M.D., Dong Suk Chung, M.D., Hyun Ju Jung, M.D.
Jong Bun Kim, M.D., Young Moon Han, M.D., Hyun Sook Kim, M.D.
and Sang Hoon Min, M.D.

Department of Anesthesiology, Catholic University Medical College

Background: This study was designed to investigate the different analgesic potency and the action mechanism of the intrathecal isomers of ketamine. For these purpose, we evaluated the effect of intrathecal ketamine isomers on the behavioral response and the spinal c-fos expression in the formalin tested rats.

Method: The subjects were divided into 2 groups(NF group, Fgroup). The NF group was designed for the purpose of the drug itself's effect on the induction of c-fos. Saline(NF/saline group), S(+) ketamine(NF/SK group), R(-) ketamine(NF/RK group) and ketamine(NF/K group) were administered intrathecally to be examined by immunocytochemical method. Same drugs were administered in the F group(F/saline, F/SK, F/RK, F/K) and formalin was injected into right hind paw of the rats after 30 minutes of intrathecal drug administration. The number of flinching was counted at intervals of 5 minutes for 60 minutes. In NF and F group, Fos immunoreactive neurons was counted after 2 hours of formalin injection and intrathecal drug injection respectively.

Results: In F/saline group, flinching was developed immediately after formalin injection and revealed biphasic response. The number of flinching in F/SK group, F/RK group, F/K group was significantly smaller than that of F/saline group. The number of flinching of F/SK group by comparison of F/SK vs F/RK was significantly smaller, and that of F/K group by comparison of F/RK vs F/K was significantly smaller. There was no significant difference among NF group on the total number of Fos immunoreactive neurons. In F group, Fos immunoreactive neurons increased significantly in comparison with NF group.

논문접수일 : 1998년 5월 13일

책임저자 : 안명자, 경기도 의정부시 금오동 65-1, 의정부성모병원 마취과, 우편번호: 480-130, Tel: 0351-820-3539, Fax: 0351-847-3449

*본 논문은 가톨릭중앙의료원 학술연구비로 이루어졌음.

**석사학위 논문임.

The total number of Fos immunoreactive neurons in F/SK group, F/RK group and F/K group were significantly smaller than that of F/saline group. Of F group, the number of Fos immunoreactive neurons of F/SK was the smallest and F/K, F/RK followed increasing order. Attenuation of Fos induction by the ketamine isomers was observed in the whole spinal cord of F/SK group and F/K group but in the superficial and deep laminae of F/RK group.

Conclusion: This study suggests that intrathecal ketamine isomers have an inhibitory effect on pathologic pain and c-fos expression in the rats and different analgesic effect which is lamina specific. (Korean J Anesthesiol 1998; 35: 269~276)

Key Words: Analgesics: intrathecal; ketamine. Antagonist: NMDA receptor antagonist. c-fos. Pain: formalin test; hyperalgesia.

서 론

수술이나 외상 등으로 말초조직이 손상되면 말초 감각과 중심감각으로 통증에 대해 과민반응이 일어난다. 말초감각은 말초신경단의 침해수용체가 염증성매개물질에 노출될 때 전위유발이 증가되어 유해 자극의 유입이 계속되는 것으로 급성통증을 유발한다. 중심감각은 척수후각 신경원의 과민반응으로 A δ 와 C-섬유를 통해 지속적인 통증자극이 유입되어 정상적으로는 잘 활성화되지 않는 N-Methyl-D-Aspartate(이하 NMDA) 수용체를 활성화시킴으로써 유입된 통증자극이 실제보다 더 강하게 되고 시간적으로도 증폭된다. 이를 windup현상이라고 하며 술후 통증의 가장 중요한 원인이 된다.¹⁾ Windup 현상은, 전기·화학적 자극을 사용하거나 염증 유발 등으로 일차성 유해구심성 섬유를 자극하면²⁾ glutamate가 NMDA 수용체를 활성화시켜 초래되며 척수후각에서 c-fos를 포함한 유전자 표현(gene expression)도 변화시켜 통증전도가 증가된다.^{3,4)} 즉, c-fos는 세포표면에 자극이 주어지면 급속히 발현되어 핵내에서 c-fos 단백질(이하 Fos)을 유도하고^{5~7)} 이는 이차적으로 다른 유전자의 전사조절 단백질을 생성하여 세포가 자극에 반응할 수 있도록 하는 즉각조기유전자(immediate early gene)이다.⁷⁾ c-fos발현에 따른 Fos 면역반응성 세포를 찾는 것은 자극의 종류에 따라 반응하는 부위가 다르기 때문에 중추신경계의 작용부위를 해부학적으로 규명하는데 이용되고 있으며^{3,4,8,9)} 특히 척수 신경원에서의 c-fos 발현은 유해자극 전달 경로에서 활성화되는 신경세포의 분석에 이용된다.

여러 NMDA 수용체 길항제가 포르말린 자극에 의한 행동반응과 척수내 c-fos발현을 감소시킨다고

알려져 있으나^{10~12)} 중추신경계내에서의 안전성이 확립되어 있지 않기 때문에 임상적용은 만족스럽지 않으며 현재 임상에서 사용 가능한 NMDA 수용체 길항제로는 ketamine이 알려져 있다. ketamine은 약리작용이 각각 다른 S(+)와 R(-) 광학이성체가 있는데 동일 용량에서 서로 다른 진통효과를 나타낸다고 한다.^{13,14)}

통증행동을 평가하기 위한 동물실험의 방법으로 쥐의 발바닥에 포르말린을 주사하면 C-섬유의 구심성 수용체를 선별적으로 자극하여 통증행동이 1기 및 2기로 구분되는 반응양상을 나타내며 특징적 통증행동으로 주춤거림을 나타낸다. 이중 2기 반응의 주춤거림은 긴장성 통증에 대한 진통제의 약효검증이나 중심감각 혹은 windup현상의 연구에 많이 이용되고 있다.¹⁵⁾

본 연구는 NMDA 수용체 길항제인 ketamine hydrochloride, S(+) ketamine hydrochloride, R(-) ketamine hydrochloride를 흰쥐의 척수강내로 투여한 후에 쥐의 발바닥에 포르말린을 피하주사하여 염증으로 인한 긴장성 통증을 유발시키고 척수감각에 의한 2기반응 때의 주춤거림 횟수를 세어 비교함으로써 지속성 통증에 대한 ketamine 광학이성체들의 서로 다른 진통효과를 검증하고, 척수내 c-fos 발현 세포수를 관찰하여 통증 반응과의 상관관계를 알아보고 각 약제들의 진통효과에 대한 작용기전과 척수에서의 작용부위를 규명하고자 시도하였다.

대상 및 방법

1) 제 료

체중 250~300 g사이의 Sprague-Dawley 수컷 흰쥐 56마리를 대상으로 하였으며 실험 1주 전부터 동일

한 조건으로 사육하였다.

2) 방 법

(1) 대 상: 흰쥐를 마취상자에 넣어 2% 할로탄을 흡인시킨 뒤 복와위로 고정하고 후두골과 제1경추 사이의 경막과 지주막을 절개한 뒤 폴리에틸렌 카테터(PE-10)를 지주막 하강에 거치시켰다. 지주막하강을 따라 카테터를 약 7.5 cm 가량 밀어넣어 카테터 끝이 요추팽대부에 위치하도록 하고 피하터널로 후두부에 고정하였다.¹⁶⁾ 카테터를 거치하고 5일 후 걸음걸이, 상처부위, 전신상태 등을 관찰하여 신경학적 손상과 감염증이 없다고 판단되는 쥐를 본 실험에 사용하였다.

각 실험군은 척수강내에 약물만 주입하고 포르말린으로 자극 하지 않은 군(NF군)과 약물주입후 포르말린으로 자극한 군(F군)으로 구성하였고 각군은 주입한 약물에 따라서 다시 생리식염수군, S(+) ketamine군, R(-) ketamine군, ketamine군으로 세분하였다(NF/saline군, NF/SK군, NF/RK군, NF/K군, F/saline군, F/SK군, F/RK군, F/K군으로 각각 표시). 즉 척수강내에 투여된 약물이 Fos 유도에 영향을 주는지를 관찰하기 위하여는 NF군이, 통증에 대한 ketamine 광학이성체의 서로 다른 진통효과를 검증하기 위해서는 F군이 사용되었으며 NF군은 각 약제별로 6마리씩 총 24마리, F군은 각 약제별로 8마리씩 총 32마리를 사용하였다.

각 약제의 척수강내 투여용량은 10 μ l로 Hemilton 주사기를 사용하여 천천히 주사하였으며 약물투여 후에는 생리식염수 10 μ l를 추가로 주입하여 카테터 내의 약물이 모두 척수강내로 주입될 수 있게 하였다. F군에서는 척수강내에 약제를 주입하고 30분뒤에 쥐의 오른쪽 뒷발바닥에 5% 포르말린 50 μ l를 27 Gauge 바늘로 피하주사한 후 관찰상자에 옮겨 매 5분동안 주춤거림(flinching) 횟수를 세어 1기(0~10분) 및 2기반응(10분~60분)으로 나누어 관찰하였다.¹⁷⁾ Fos는 포르말린 주사후 2시간 경과시 가장 많이 유도되므로 F군에서는 포르말린 주사후 2시간 경과후에, NF군에서도 카테터에 약제주입후 2시간 경과후에 각각 마취시키고 개흉하여 대동맥에 도관을 삽입한 다음 생리식염수 200 ml를 관류하고 4% paraformaldehyde 300 ml를 다시 관류하여 척수를 고정시킨 뒤 척수를 적출하였다.¹⁸⁾

(2) 조직검사표본: 적출한 척수를 고정액에서 4시간 고정한 뒤 30% sucrose액을 가하여 4°C에 18시간동안 방치한 후 척수를 액체질소로 급속 냉동시켜 요추팽대부의 L3~L4 segments에서 냉동관상절편(frozen section)을 만들어 well-plate에 옮긴후 면역세포화학법을 시행하였다.¹⁸⁾

(3) 면역세포화학염색: 조직을 avidin-biotin-peroxidase complex(ABC) 면역세포화학법으로 염색하였다. 약술하면 1차 항체인 rabbit polyclonal anti-Fos antibody (Oncogene Science PC 05, Massachusetts, U.S.A.)를 1 : 400으로 희석하여 4°C에서 48시간 반응 시킨뒤 2차 항체인 biotinylated goat anti-rabbit antibody(Vector Lab Inc., U.S.A.)를 1 : 200으로 희석하여 상온에서 1시간 작용시키고 avidin-biotin-peroxidase complex(Vector Lab. Inc.)를 가하여 상온에서 1시간동안 처리한 후 diaminobenzidine(DAB, Vector Lab. Inc.)으로 10분간 발색시켰다.

(4) Fos 유도 세포수 측정: L3~L4 segments의 3개 절편에서 포르말린을 주사한 발과 동측에 있는 척수의 회색질을 100배율로 확대하여 Fos가 유도된 전체 세포수를 광학현미경하에서 세고 층판(lamina)분포를 알기 위하여 표재층(lamina I-II; superficial), 고유핵(lamina III-IV; nucleus proprius), 심층(lamina V-VI; deep lamina), 전각(lamina VII-X; ventral) 등 내부위로 나누어 각 부위별 세포수를 세었다.^{18,19)}

(5) 통계: 각 군에서 얻어진 결과는 평균 $\pm$ 표준편차로 표시하였다. 각 군의 2기반응의 주춤거림 횟수와 Fos가 유도된 세포수는 일원분산분석(ANOVA test)과 Duncan의 사후 검증법(post hoc comparision)을 이용하여 비교하였다. 2기 반응의 주춤거림과 Fos가 유도된 전체 세포수 사이의 상관관계는 Spearman의 상관계수로 분석하였고 모든결과는 $P < 0.05$ 를 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1) 주춤거림에 대한 효과

F군은 포르말린이 주사된 하지에 규칙적인 주춤거림을 나타내었다. F/saline군에서는 포르말린을 주사한 직후 주춤거림이 나타났다가 10분후 현저히 감소하였으며 이후 다시 증가하여 40분에 최고에 달한후 60분까지 서서히 감소하는 이상성 양상을

보였다(Fig. 1). F/SK군, F/RK군, F/K군 모두에서 F/saline군에 비해 주춤거림이 유의하게 감소되었다($P < 0.05$). F/SK군과 F/RK군 사이에서는 F/SK 군에서, F/RK군과 F/K군간에서는 F/K군에서 주춤거림이 유의하게 감소하였지만($P < 0.05$) F/SK군과 F/K군 사이에는 유의한 차이가 없었다(Table 1).

2) Fos가 유도된 세포수에 대한 효과

NF군내의 NF/saline군, NF/SK군, NF/RK군, NF/K군 간에는 Fos가 유도된 세포수에 유의한 차이가 없었으므로 약물에 의한 Fos 유도 효과는 무시할 수 있었다. F군 모두는 NF군에 비해 Fos가 유도된 세포수가 유의하게 증가하였다($P < 0.05$). 전체 Fos 유도

세포수를 측정된 결과 F/SK군, F/RK군, F/K군 모두 F/saline군에 비해 유의하게 감소되었고($P < 0.05$) 세 군중에서는 F/SK군, F/K군, F/RK군 순으로 적었으며 통계적으로 유의하였다($P < 0.05$). Fos가 유도된 곳을 부위별로 관찰한 결과 F/saline군에서는 주로 표재층과 심층에서 많이 유도되었으며 그 다음은 고유핵과 전각순이었다. 각군에서 F/saline군에 비하여 Fos 유도가 특히 많이 감소한 부위를 조사한 결과 F/SK군과 F/K군에서는 모든 부위에서 감소되었고 F/RK군에서는 표재층과 심층에서만 유의하게 감소되었다($P < 0.05$)(Table 2)(Fig. 2).

3) 주춤거림과 Fos유도 세포수의 상관관계

F군에서 2기 반응의 주춤거림 횟수에 대한 각 약제의 진통효과와 Fos 발현 세포수에 대한 각 약제의 억제효과는 상관관계수 0.525이었다($P < 0.01$).

Fig. 1. Time-effect curves of intrathecal S(+) ketamine, R(-) ketamine and ketamine for the number of flinching every 5 minutes after formalin injection(Mean $\pm$ S.D.).

Table 1. The Effects of Intrathecal S(+) ketamine, R(-) Ketamine and Ketamine on the Number of Flinching during the Phase 2 Response after Formalin Injection

Saline (n=8)	S(+) ketamine (n=8)	R(-) ketamine (n=8)	Ketamine (n=8)
663.8 $\pm$ 106.9	78.6 $\pm$ 18.2* [†]	386.2 $\pm$ 96.3*	99.0 $\pm$ 25.5* [†]

Mean $\pm$ S.D.

* $P < 0.05$, compared to saline

[†] $P < 0.05$, compared to R(-) ketamine

Table 2. The Effect of Intrathecal S(+) Ketamine, R(-) Ketamine and Ketamine on the Total Number of Fos-Immunoreactive Neurons and Laminar Distribution of the L3-L4 Segments of the Spinal Cord in F Group and NF Group

	F group					NF group
	Lamina I-II	Lamina III-IV	Lamina V-VI	Lamina VII-X	Total	Total
Saline	112.4 $\pm$ 20.6	54.5 $\pm$ 26.6	113.8 $\pm$ 16.1	44.9 $\pm$ 14.5	325.5 $\pm$ 52.3	13 $\pm$ 3 [†]
SK	34.3 $\pm$ 9.0*	9.6 $\pm$ 5.1*	23.8 $\pm$ 5.3*	11.4 $\pm$ 2.4*	79.0 $\pm$ 10.0* [†]	17 $\pm$ 3.5 [†]
RK	79.3 $\pm$ 17.48	32.5 $\pm$ 6.9	57.1 $\pm$ 17.7*	28.9 $\pm$ 12.7	197.7 $\pm$ 24.6* [†]	21 $\pm$ 4.6 [†]
K	39.6 $\pm$ 11.1*	16.8 $\pm$ 4.8*	39.4 $\pm$ 6.4*	16.1 $\pm$ 7.2*	111.9 $\pm$ 7.5* [†]	14 $\pm$ 3.4 [†]

Values are Mean $\pm$ S.D.

* $P < 0.05$, compared to F/saline group, [†] $P < 0.05$, compared to F group, [†] $P < 0.05$, significant difference between F/SK, F/RK, F/K group, SK: S(+) ketamine, RK: R(-) ketamine, K: ketamine, F: formalin, NF: non-formalin

Fig. 2. Induction of *c-fos* in gray matter of the L3-L4 segments of the spinal cord in F/saline group(A) and F/SK group(B)($\times 100$). arrow: Fos immunoreactive neuron. d: deep lamina, n: nucleus proprius, s: superficial.

고 찰

통증반응의 연구에 사용되는 여러 방법중, 포르말린 검사는 쥐의 발바닥에 포르말린을 피하주사하는 방법으로 조직손상에 따른 척수감작으로 인한 만성 통증의 전형적 모델로 널리 사용되고 있다. 포르말린을 주사하면 조직 손상에 의한 통증으로 인해 주춤거림(flinching), 핥기(licking), 흔들기(shaking) 등의 독특한 통증행동을 관찰할 수 있다. 주춤거림은 포르말린이 주사된 발을 자발적, 비수의적, 일시적으로 빠르게 들어올리거나 떨거나 흔드는 등의 특이한 행동으로 다른 통증반응들보다 더 활발하고 자발적인 행동이므로 포르말린 검사에서 통증 지표로 채택되어진다.^{15,20} 여러 보고에 의하면 포르말린을 주사한 직후 수분동안 주춤거림이 있다가 일정기간 소실된 후 주춤거림이 다시 생겨 40분이나 그 이상 지속되는 이상성 반응(biphasic respons)을 보이게 된다고 하는데^{15,20,21} 본 연구에서도 흰쥐의 뒷발바닥에 포르말린을 피하주사하여 통증반응인 주춤거림을 관찰할 수 있었으며 1기와 2기의 전형적인 이상성을 보여 이들 보고와 일치하였다.

포르말린 주사에 의한 2기 행동반응은 구심성 C-

섬유가 지속적으로 전기자극을 받아 척수후각 투사 신경원(projection neuron)의 흥분성이 점진적으로 증가되어 지속되는 자극에 대한 반응성을 증폭시키는 windup 혹은 중심감작에 의하여 생기는데²²⁻²⁴ 여기에는 척수후각의 NMDA 수용체가 중요한 역할을 한다고 알려져 있다.^{13,25,26} 여러종류의 NMDA 길항제가 고농도를 제외하고는 급성통증에 대해 진통효과가 적고 포르말린 검사의 1기반응보다 2기 반응에 대해 억제 효과가 크다고 한다. 이는 NMDA 길항제가 직접적인 C-섬유의 자극으로 유발된 척수신경원의 흥분에는 영향을 미치지 않는 반면 지속적인 C-섬유의 자극으로 인해 유발되어지는 척수의 촉진과정을 더 차단시키기 때문이라 한다.^{25,27} NMDA 길항제에 의해 windup현상이 완전히 차단되는 것으로 보아 windup현상은 NMDA수용체가 매개하는 흥분성 접합후 전위의 일시적인 가중현상으로 여겨지고 있다.²⁸ 본 연구에서도 NMDA 길항제인 ketamine이 척수감작에 의한 2기 반응에 대한 진통효과를 보여 windup현상이 NMDA수용체에 의해 매개됨을 나타내었다.

후각의 NMDA수용체는 정상적으로는 구심성 섬유에서 유리되는 흥분성 아미노산에 반응하지 않지만 반복적인 유해자극 후에는 이들 수용체들도 자

극되어 일련의 세포내 반응을 야기하게 되고 뒤따르는 감각 자극에 대한 반응까지도 강화시키고 연장시킨다고 한다.^{20,25,26} 특히 척수 후각의 wide dynamic range(WDR) 신경원에 존재하는 NMDA 수용체가 활성화 되면 중심감각의 원인이 되고 통각과민이 발생한다. Coderre와 Mayer 등은 포르말린 주사 후 구심성 섬유 말단의 유해수용체가 강력히 활성화 되어 척수의 투사신경원에서 non-NMDA 수용체가 활성화되어 발생한 접합후막 전위에 의해 NMDA 수용체의 이온통로를 막고 있던 Mg^{++} 의 차단효과가 감소되어 척수 후각신경원에서 NMDA 의존성 windup이 유발된다고 하였다.^{29,30} 여기에 통증의 악순환설을 적용할 수 있는데 glutamate에 의해 NMDA 수용체가 활성화되어 세포내로 Ca^{++} 이 이동하면 Ca^{++} 을 매개로 한 산화질소(NO) 및 prostaglandin 합성이 연속단계로 촉진되며 이들은 되먹이기 작용으로 다시 신경전달물질의 유리를 증강시킨다. 이러한 악순환에 의하여 WDR 신경세포에서 전기적 증폭이 발생하고 통증에 대한 역치는 낮아짐으로써 통증전달과정의 변형이 일어나는 것이며 임상적으로 통각과민으로 나타나는 것이다.³¹⁾

흥분성 아미노산인 glutamate는 척수에서 구심성 섬유에 의한 후각세포의 활성화에 관계하는 주요 통증전달 물질이며 신호전달 체계를 통하여 세포기능의 변화를 초래하게 되는데 이러한 흥분성 신경전달 물질에 반응하여 일어나는 신호전달과정은 칼슘과 cAMP와 같은 이차 전달자들에 의해 증대되어 특정한 유전자의 발현을 유도시킨다.^{5,18)} Lerea와 McNamara는 NMDA 수용체가 활성화되어 세포내 칼슘유입으로 세포내 칼슘농도가 증가하면 일련의 효소가 활성화되어 cAMP를 증가시키고 그 결과로 protein kinase A(PKA)의 활성이 증가하게 되며 PKA가 *c-fos* 촉매부위(promotor)의 DNA 조절인자에 연결되어 *c-fos*의 전사 활성화에 관여하게 된다고 하였다.³²⁾ 또한 Bading 등은 세포내 칼슘농도와 Fos의 전사 조절에 대하여 NMDA와 non-NMDA 수용체 각각의 상대적 기여도를 연구 보고하였는데 NMDA 수용체의 활성이 전사반응에 있어서 필요충분한 반면에 non-NMDA 수용체는 전사 조절에 있어서 비교적 조금만 기여한다고 하였다.³³⁾ 본 연구에서도 포르말린 자극으로 인한 척수에서의 Fos 유도 세포수가 NMDA 길항제인 ketamine에 의해 억제되는 것으로

미루어 Fos유도가 NMDA 수용체에 의해 매개됨을 알 수 있었다.

*c-fos*는 표적유전자(target gene)의 촉매부위에 있는 DNA-결합단백이나 DNA에 결합하여 신경계의 장기적 기능적 변화를 유도하는 초기유전자(early gene)의 발현을 조절하는 전사인자로 작용한다고 한다.³⁴⁾ Presley 등은 흰쥐의 뒷발바닥에 포르말린으로 자극하면 척수에서 Fos 유도 세포수는 2시간 뒤에 최대로 많았으며, 또한 뒷발바닥을 신경지배하는 3~5요추 분절의 척수에서 가장 많이 관찰된다고 하였다.¹⁸⁾ 본 연구에서도 흰쥐의 뒷발바닥에 포르말린으로 자극하여 2시간 뒤에 3, 4요추 분절의 척수에서 Fos 유도세포수를 관찰한 결과 Presley 등의 보고와 일치하였다. 척수후각에서 통증정보는 주로 중판 I, II과 중판 V에 투사되며(1) Kitahata 등은 ketamine이 중판 I과 중판 V의 활성을 유의하게 억제하며 중판 V에서 상대적으로 더 많은 억제를 나타낸다고 하였다.³⁵⁾ 본 연구에서도 포르말린 자극후 주로 심층과 표재층에서 Fos가 유도되었고 척수강내 투여한 ketamine이 심층에서 Fos 유도를 더 많이 억제하여 이들 연구와 일치하였다.

ketamine은 해리성 마취제로서 NMDA 수용체의 phencyclidine 결합부위(PCP site)에 결합하여 수용체 기능을 비경쟁적으로 억제한다.³⁶⁾ ketamine의 두 이성체인 S(+) ketamine과 R(-) ketamine의 진통작용의 역가와 PCP 결합부위의 친화력 사이에 상관관계가 있음이 보고되었고,³⁷⁾ 또한 S(+) ketamine이 R(-) ketamine보다 PCP 결합부위에 대한 친화력에 있어서 훨씬 더 큰 역가를 나타내어 NMDA 수용체 매개성 신경전류 억제와 진통작용에 있어서 더 많은 효과가 있음이 보고되었다.^{38,39)} 본 연구에서도 S(+) ketamine이 R(-) ketamine에 비해 통증반응과 척수내 Fos 유도 세포수를 억제하는 정도가 더 컸으며 라세믹 혼합물인 ketamine과도 유의한 차이를 보였다. 또한 통증반응에 대한 효과가 Fos발현의 억제 효과와 관계가 있음을 보여 NMDA 수용체에 대한 작용의 차이로 진통효과가 다를 수 있음을 알았으며 이것은 수술후의 통증치료나 만성통증 증후군의 치료에 응용될 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 본 연구는 여러가지 통증반응 행동중 주춤거림만 측정하여 실제 진통효과와 오차가 있을 수 있으며 *c-fos* mRNA를 직접 측정하지 않았다는 점 때문에 어느 정도의 제

한점이 있을 것이다. 추후에는 이를 개선한 연구와 실제 ketamine을 인체에 적용시키기 위한 더 많은 연구가 필요하리라 생각된다.

결론적으로 ketamine의 광학이성체가 척수에서 나타내는 진통효과와 작용기전을 규명하고자 흰쥐의 척수강내에 ketamine을 주입한 후 포르말린 자극을 주어 2기 통증반응 행동중의 하나인 주춤거림과 면역세포화학법에 의한 척수내 c-fos단백질 유도를 관찰한 결과 척수강내 투여한 NMDA 길항제인 ketamine과 그 이성체가 척수의 특정부위에 작용하여 포르말린 자극에 의한 통증의 2기반응과 척수내 Fos 유도 세포수를 억제함을 알 수 있었다. 또한 Fos 유도 세포수와 통증반응은 상관관계가 있음도 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. 송선옥: 술후통증관리의 접근. 대한통증학회지 1995; 8: 1-7.
2. Draisci G, Iadarola M: Temporal analysis of increases in c-fos, preprodynorphin and preproenkephalin mRNA in rat spinal cord. Molecular Brain Res 1989; 6: 31-7.
3. Skilling SR, Smullin SH, Beitz AJ, Larson AA: Extracellular amino acid concentrations in the dorsal spinal cord of freely moving rats following veratridine and nociceptive stimulation. J Neurochem 1988; 51: 127-32.
4. Abbadié C, Besson JM: c-fos expression in rat lumbar spinal cord during the development of adjuvant-induced arthritis. Neuroscience 1992; 48: 985-93.
5. Morgan JI, Curran T: Stimulus-transcription coupling in the nervous system: involvement of the inducible proto-oncogenes fos and jun. Annu Rev Neurosci 1991; 14: 421-51.
6. Curran T, Franza BR: Fos and Jun: the AP1 connection. Cell 1988; 55: 395-7.
7. Schilling K, Curran T, Morgan JI: The excitement of immediate-early genes. Ann NY Acad Sci 1991; 627: 115-23.
8. Robetson GS, Fibiger HC: Neuroleptics increase c-fos expression in the forebrain contrasting effects of haloperidol and clozapine. Neurosci 1992; 46: 315-28.
9. Gogas KR, Presly RW, Levine JD, Basbaum AI: The antinociceptive action of supraspinal opioids results from an increase in descending inhibitory control: Correlation of nociceptive behavior and c-fos expression. Neuroscience 1991; 42: 617-28.
10. Hunter JC, Singh L: Role of excitatory amino acid receptors in the mediation of the nociceptive response to formalin in the rat. Neurosci Lett 1994; 174: 217-21.
11. Elliott KJ, Brodsky M, Hynansky AD, Foley KM, Inturrisi CE: Dextromethorphan suppresses both formalin-induced nociceptive behavior and the formalin-induced increase in spinal cord c-fos mRNA. Pain 1995; 61: 401-9.
12. Chapman V, Honoré P, Buritova J, Besson JM: The contribution of NMDA receptor activation to spinal c-fos expression in a model of inflammatory pain. Br J Pharmacol 1995; 116: 1628-34.
13. Davis SN, Lodge D: Evidence for involvement of N-methyl-D-aspartate receptors in 'Wind-up' of class 2 neurones in the dorsal horn of the rat. Brain Res 1987; 424: 402-6.
14. Anis NA, Berry SC, Burton NR, Lodge D: The dissociative anaesthetics, ketamine and phencyclidine, selectively reduce excitation of central mammalian neurones by N-methyl-D-aspartate. Br J Pharmacol 1983; 79: 565-75.
15. Wheeler-Aceto H, Porreca F, Cowan A: The rat paw formalin test: Comparison of noxious agents. Pain 1990; 40: 229-38.
16. Mao J, Price DD, Hayes RL, Lu J, Mayer DJ, Frenk H: Intrathecal treatment with dextrophan or ketamine potentially reduce pain-related behaviors in a rat model of peripheral mononeuropathy. Brain Res 1993; 605: 164-8.
17. Chaplan SR, Malmberg AB, Yaksh TL: Efficacy of spinal NMDA receptor antagonism in formalin hyperalgesia and nerve injury evoked allodynia in the rat. J Pharmacol Exp Ther 1997; 280: 829-38.
18. Presley RW, Menétrey D, Levine JD, Basbaum AI: Systemic morphine suppresses noxious-evoked Fos protein like immunoreactivity in the rat spinal cord. J Neurosci 1990; 10(1): 323-35.
19. Molander C, Q XU, Grant G: The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the rat. The lower thoracic and lumbosacral cord. J Comparative neurology 1984; 230: 133-41.
20. Dubuisson D, Dennis SG: The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, and brain stem stimulation in rats and cats. Pain 1977; 4: 161-74.
21. Yamamoto T, Yaksh TL: Comparison of the antinociceptive effects of pre- and posttreatment with in-

- trathecal morphine and MK 801, an NMDA antagonist, on the formalin test in the rat. *Anesthesiology* 1992; 77: 757-63.
22. Dickenson AH, Sullivan AF: Subcutaneous formalin-induced activity of dorsal horn neurons in rat: Differential response to an intrathecal opiate administered pre or post formalin. *Pain* 1987; 30: 349-60.
23. Schouenborg J, Dickenson A: Long-lasting neuronal activity in rat dorsal horn evoked by impulses in cutaneous C fibers during noxious mechanical stimulation. *Brain Res* 1988; 439: 56-63.
24. Wolf CJ: Evidence for a central component of post injury pain hypersensitivity. *Nature* 1983; 306: 686-8.
25. Wolf CJ, Thompson WN: The induction and maintenance of central sensitization is dependent on N-methyl-D-aspartic acid receptor activation: Implication for the treatment of post-injury pain hypersensitivity state. *Pain* 1991; 44: 293-9.
26. Haley JE, Sullivan AF, Dickenson AH: Evidence for spinal N-methyl-D-aspartate receptor involvement in prolonged chemical nociception in the rat. *Brain Res* 1990; 518: 218-26.
27. O'Connor TC, Abram SE: Halothane enhances suppression of spinal sensitization by intrathecal morphine in the rat formalin test. *Anesthesiology* 1994; 81: 1277-82.
28. Thompson SW, King AE, Woolf CJ: Activity-dependent changes in rat ventral horn neurons in vitro: summation of prolonged afferent evoked depolarizations produce a D-2-amino-5-phosphonovaleric acid sensitive windup. *Eur J Neurosci* 1990; 2: 638-49.
- 29.Coderre TJ, Melzack R: The role of NMDA receptor operated calcium channels in persistent nociception after formalin-induced tissue injury. *J Neurosci* 1992; 12(9): 3671-5.
30. Mayer ML, Westbrock G, Land-Guthrie PB: Voltage-dependent block by Mg^{++} of NMDA responses in spinal cord neurones. *Nature* 1984; 309: 261-3.
31. Yaksh TL: The spinal pharmacology of facilitation of afferent processing evoked by high threshold afferent input of the post injury pain state. *Curr Opin Neurol Neurosurg* 1993; 6: 250-6.
32. Lerea LS., McNamara JO: Ionotropic glutamate receptor subtypes activate c-fos transcription by distinct calcium-regulating intracellular signal pathway. *Neuron* 1993; 10: 31-41.
33. Bading H, Segal MM, Sucher NJ, Dudek H, Lipton SA, Greenberg ME: N-methyl-D-aspartate receptors are critical for mediating the effects of glutamate in intracellular calcium concentration and immediate early gene expression in cultured hippocampal neurones. *J Neurosci* 1995; 64: 653-64.
34. Dubner R, Ruda M: Activity-dependent neuronal plasticity following tissue injury and inflammation. *TINS* 1992; 15: 96-103.
35. Kitahata LM, Taub A, Kosaka Y: Lamina-specific suppression of dorsal horn unit activity by ketamine hydrochloride. *Anesthesiology* 1973; 38: 4-11.
36. Lodge D, Johnson K: Noncompetitive excitatory amino acid receptor antagonists. *Trends Pharmacol Sci* 1990; 11: 81-6.
37. Klepstad P, Maurset A, Moberg ER, Øye I: Evidence of a role for NMDA receptors in pain perception. *Eur J Pharmacol* 1990; 187: 513-8.
38. Øye I, Paulsen O, Maurset A: Effects of ketamine on sensory perception: Evidence for a role of N-methyl-D-aspartate receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 260: 1209-13.
39. Zeilhofer HU, Swandulla D, Geisslinger G, Brune K: Differential effects of ketamine enantiomers on NMDA receptor currents in cultured neurones. *Eur J Pharmacol* 1992; 213: 155-8.