백서 수술 후 통증모델에서 관찰한 척수 c-fos 발현

순천향대학교 의과대학 일반대학원, *순천향대학교 의과대학 부천병원 마취통증의학과

도 석 주 · 최 석 기* · 진 희 철*

Expression of Spinal c-fos in a Rat Model of Postoperative Pain

Sok Ju Doh, M.D., Suk Ki Choi, M.D.*, and Hee Cheol Jin, M.D.*

Graduate School, College of Medicine, Soonchunhyang University, *Department of Anesthesiology and Pain Medicine, Soonchunhyang University Hospital, Bucheon, Korea

Background: The oncogene, c-fos, is a useful marker of nociceptive neurons activated by various types of pain. However, the relationship between c-fos and acute pain induced by surgical incision has not been studied. The purpose of this study was to describe the expression of spinal c-fos in a rat model of postoperative pain.

Methods: Sprague-Dawley rats were used to enumerate spinal fos-like immunoreactive (fos-LI)-positive neurons after making sham, skin, or skin-muscle incisions on the plantar surface of the rat hindpaw. The spinal cords were divided into the following 4 segments for immunohistochemical detection of fos-LI at 3 time points after the incision (4 hours, POD1, and POD3): thoracic, upper lumbar, lower lumbar, and sacral. For analysis of the laminar distribution of fos-LI, the dorsal horn was divided into three regions (I–II, III–IV, and V–VI).

Results: The number of fos-LI was increased in the ipsilateral spinal dorsal horn in the lower lumbar segment 4 hours post-incision and was significantly greater in rats with skin-muscle incisions than in rats with skin-alone incisions. In the skin-muscle group, laminae I–II and V–VI had a greater number of fos-LI neurons than laminae III–IV. The increase in number of spinal fos-LI neurons normalized by POD1 and POD3.

Conclusions: c-fos expression is confined to neurons of the spinal dorsal horn known to be activated by nociceptive stimulation. The larger the injury elicited, the greater the expression of c-fos, suggesting that the expression of c-fos can serve as a useful marker of activated nociceptive neurons caused by acute pain following surgical incision. Further study is required to elucidate why the degree of tissue injury affects the laminar distribution of c-fos expression. (Korean J Anesthesiol 2008; 54: 328~34)

Key Words: c-fos, postoperative pain, spinal.

서 론

c-fos는 조기발현 유전자 중의 하나로서 종양유전자로 알려져 있고, 이 유전자로부터 발현되는 핵단백질인 fos는 다른 핵단백질 jun과 결합하여 또 다른 목표 유전자 발현을 조절한다.^{1,2)} 또한 유해성 자극이 주어진 후 척수후각에서 염색되어 나타나는 fos-like immunoreactivity (fos-LI)는 신경 세포 활성화의 지표로서 널리 활용되고 있다.^{3,4)} 그러나 화

학적 또는 열자극에 의한 통증이나 염증성 또는 신경병증성 통증, 만성통증에 의해 발현되는 c-fos에 관한 연구는 많으나,⁵⁻⁹⁾ 절개에 의한 급성통증에서의 연구는 아직 없다.

급성통증에 대한 동물 실험모델 중 Brennan 등의¹⁰⁾ 백서 수술 후 통증모델은 수술 후 통증의 기전을 밝히는 실험연구에서 많이 사용된다. 이는 이 모델이 재현 가능하고 정량적으로 측정 가능한 기계적인 통각과민을 일으키며 이 통각과민은 임상상황에서 관찰되는 수술 후 급성통증의 시간적인 변화와 유사한 양상을 보이기 때문이다.^{11,12)}

저자들은 c-fos가 절개에 의한 급성통증 모델에서도 활성화된 통각수용체성 척수 신경세포의 표식자로서 유용한지 알아보려고 백서 수술 후 통증모델에서 c-fos가 발현되는 양상을 알아보았다.

논문접수일 : 2008년 1월 15일

책임저자 : 진희철, 경기도 부천시 원미구 중 1동 1174

순천향대학교 부천병원 마취통증의학과

우편번호: 420-853

Tel: 032-621-5326, Fax: 032-621-5322

E-mail: anecl0503@yahoo.co.kr

박사학위 논문임.

대상 및 방법

연구 대상으로 체중 250–300 g 사이의 수컷 Sprague-Dawley 백서 54마리를 실험 전 최소한 5일간 절개 전에는 쌍으로, 절개 후에는 한 마리씩 12시간 간격으로 명암이 조절되게 사육하였다. 물과 먹이는 자유롭게 먹게 하였다. 실험 전 동물실험 윤리위원회의 허가를 얻었으며 “NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”를 준수하였다.

백서 후측저 절개는 Brennan 등이¹⁰⁾ 전술한 방법으로 시행하였다. 백서를 투명한 플라스틱 상자에 넣고 5% halothane과 산소를 유입시켜 마취를 유도한 뒤 꺼내어 백서의 입과 코가 들어갈 수 있도록 제작된 마스크를 통해 2–3%의 halothane과 산소를 흡입시켜 마취를 유지하였다. 우측 후측저를 10% povidone-iodine으로 소독한 뒤 수술부위를 제외한 모든 나머지 부위를 무균성 공포로 덮었다. 11번 칼날을 사용하여 뒤꿈치의 시작지점에서 0.5 cm되는 지점으로부터 세로 1 cm 길이로 피부를 절개하여 족저근을 노출시켰다. 족저근을 들어 올려 세로로 절개하여 근육의 기시부와 종지부는 제외하였다. 수술부위를 가볍게 압박하여 지혈한 후 족저근을 봉합하지 않은 상태에서 6-0 nylon과 FS-2 needle을 이용하여 2 mattress suture로 피부를 봉합하였다. 환부에 polymixin B와 neomycin, bacitracin 혼합연고를 바른 뒤 halothane 투여를 중단하고 백서를 회복시켰다. 실험 대상을 세 군으로 나누어 절개 과정 중 피부와 족저근을 모두 절개한 군을 피부-근육군(n = 18), 피부만 절개한 군을 피부군(n = 18), 절개를 시행하지 않고 10분간 마취만 시행한 후 회복시킨 군을 대조군(n = 18)으로 하였다.

fos-LI 염색을 위해 세 군마다 6마리씩 3부분으로 다시 나누어 절개 후 4시간(4HRS)과 1일(POD1), 3일(POD3)에 염색을 시작하였다. fos-LI는 Chowdhury 등이¹³⁾ 전술한 면역조직화학(immunohistochemistry) 염색법을 사용하여 염색하였다.

Phentobarbital 200 mg을 백서의 복강 내로 주사하여 깊게 마취한 후 흉벽을 절개하고 심장과 대동맥을 노출시켰다. 좌심실을 천자하여 대동맥에 도관을 연결하고 heparin이 첨가된 phosphate buffered saline (PBS) 300 ml를 전신으로 관류시켜 혈액을 제거하였다. 표본고정을 목적으로 4% paraformaldehyde가 포함된 PBS 300 ml를 추가로 관류시킨 뒤 T₁₀부터 S₂까지의 척수를 적출하였다. 적출하기 전 척수에 T₁₃, L₃, L₆의 세 부위를 표시하였다. 적출한 척수를 4% paraformaldehyde가 포함된 PBS에 약 3시간 동안 보관하여 추가고정한 뒤 30% sucrose가 포함된 PBS 용액에 2일간 냉장 보관하여 표본의 냉해를 방지하였다.

적출된 척수의 좌측 전각부위를 얇게 절개하여 좌우를

표시한 뒤 척수를 흉추부(T₁₀–T₁₃), 상부요추부(L₁₋₃), 하부요추부(L₄₋₅), 미추부(L₆–S₂)의 4분절로 분리하였다. 각각의 분리된 척수분절을 30 μ m의 두께로 냉동 미세 절단하여 3개의 절단면 당 하나를 택하는 방식으로 염색할 절단면들을 선택하였다. 절단면은 즉시 면역조직화학염색하거나 –70°C로 냉동 보관하였다.

준비된 절단면을 0.3% H₂O₂ 용액에 30분간 담근 후 3% 염소혈청이 포함된 PBS 용액에 2시간 동안 담가두었다. 그 후 절단면을 실온에서 anti-fos antibody (sheep polyclonal IgG₁, Calbiochem., USA)에 하룻밤 담근 후 PBS 용액으로 세척하고 biotinylated goat anti-rabbit secondary antibody (1 : 600)에 2시간 동안 담갔다. PBS 용액으로 절단면을 다시 세척한 후 avidin : biotinylated enzyme complex용액(Vector Laboratories, USA)에 1시간 담가두었다. 마지막으로 절단면을 DAB 용액(3, 3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride, Sigma, USA)에 약 150초간 염색하였다.

염색된 절단면을 유리슬라이드 위에 표본제작하고 하룻밤 동안 건조시켰다. 만들어진 표본을 50%, 75%, 95%, 100% 무수알코올에 차례로 담가 탈수시키고 permount를 사용하여 유리덮개를 부착한 뒤 2일간 건조시켜 염색표본을 완성하였다. 완성된 염색표본 사진은 광학현미경 (BX51, Olympus, Japan)을 통해 얻었다.

fos-LI는 Image J software (National Institute of Mental Health, USA)를 사용하여 수기로 그 개수를 세었다. 4개로 분리된 각 척수분절마다 3장의 염색표본 사진을 선택하여

Fig. 1. Cross section of the lower lumbar portion of the rat spinal hemi-cord showing fos-like immunoreactivity. Dense black dots represent stained fos-like immunoreactivities. Laminae are indicated with roman numerals.

척수후각에 존재하는 fos-LI의 수를 세어서 평균값을 기록하였다. 유의 있는 변화가 있는 분절은 Molander 등이¹⁴⁾ 보고한 백서의 Rexed 층별(I-II, III-IV, V-VI)로 세분하여 개수를 세었다(Fig. 1). fos-LI의 개수는 염색표본이 어느 군에 속하는지 모르는 사람이 측정하였다.

fos-LI의 수는 Stata/SE 9.2 for windows (StataCorp, USA) 통계 소프트웨어를 사용하여 일원분산분석(one way ANOVA)으로 비교한 뒤 Newman-Keuls multiple comparison test로 사후 검정하였다. 모든 측정치는 평균 $\pm$ 표준편차로 나타냈고 P값이 0.05 미만인 경우를 통계학적으로 유의한 차이가 있

다고 하였다.

결 과

전 실험기간을 통하여 흉추부, 상부요추부, 미추부 척수에서는 절개한 우측과 절개하지 않은 좌측 모두에서 피부-근육군과 피부군의 fos-LI 양성 신경세포가 대조군에 비해 유의한 차이가 없었다(Fig. 2-4). 4HRS에 적출한 상부요추부 우측 척수에서 피부-근육군, 피부군, 대조군의 fos-LI는 각각 14.2 ± 7.37 , 16.8 ± 8.1 , 9.7 ± 4.6 개였지만 세 군 간에 통계적인 차이는 없었다.

Fig. 2. Number of fos-like immunoreactivity on thoracic (T_{10-13}) spinal dorsal horn in rats 4 hours, 1 day, and 3 days following 3 types of hindpaw incision. Data are mean $\pm$ SD. 4 HRS: 4 hours after incision, POD1: 1 day after incision, POD3: 3 days after incision. There is no difference among 3 types of incision.

Fig. 4. Number of fos-like immunoreactivity on sacral (L_6-S_2) spinal dorsal horn in rats 4 hours, 1 day, and 3 days following 3 types of hindpaw incision. Data are mean $\pm$ SD. 4 HRS: 4 hours after incision, POD1: 1 day after incision, POD3: 3 days after incision. There is no difference among 3 types of incision.

Fig. 3. Number of fos-like immunoreactivity on upper lumbar (L_{1-3}) spinal dorsal horn in rats 4 hours, 1 day, and 3 days following 3 types of hindpaw incision. Data are mean $\pm$ SD. 4 HRS: 4 hours after incision, POD1: 1 day after incision, POD3: 3 days after incision. There is no difference among 3 types of incision.

Fig. 5. Number of fos-like immunoreactivity on lower lumbar (L_{4-5}) spinal dorsal horn in rats 4 hours, 1 day, and 3 days following 3 types of hindpaw incision. Data are mean $\pm$ SD. 4 HRS: 4 hours after incision, POD1: 1 day after incision, POD3: 3 days after incision. *: $P < 0.05$ vs sham, †: $P < 0.05$ vs skin.

Fig. 6. Laminar distribution of lower lumbar (L₄₋₅) spinal fos-like immunoreactivity on right side of spinal dorsal horn in rats 4 hours following 3 types of hindpaw incision. Data are mean $\pm$ SD. 4 HRS: 4 hours after incision, POD1: 1 day after incision, POD3: 3 days after incision. *: $P < 0.05$ vs sham, †: $P < 0.05$ vs Rexed Lamina III-IV.

하부요추부 우측 척수에서는 피부-근육군과 피부군의 fos-LI가 4HRS에 각각 42.6 ± 5.4 와 31.0 ± 4.5 개로 대조군의 11.0 ± 2.5 개에 비해 유의하게 증가하였고 피부-근육군에서 피부군에 비해 증가정도가 더 컸다($P < 0.05$, Fig. 5). 그러나 절개한 두 군 모두 POD1과 POD3에는 대조군과 차이가 없게 정상 수준으로 회복되었다. 하부요추부 좌측 척수에서는 fos-LI 양성 신경세포가 피부-근육군과 피부군에서 대조군에 비해 증가하지 않았다.

하부요추부 우측 척수에서 4HRS의 fos-LI 양성 신경세포를 Rexed 층별로 세었을 때 피부-근육군은 층 I-II, III-IV, V-VI에서 각각 15.4 ± 5.3 , 9.1 ± 4.4 , 18.1 ± 1.2 개였고 피부군은 10.6 ± 2.6 , 9.4 ± 1.2 , 10.8 ± 2.0 개로 나타나 절개한 군의 모든 층에서 대조군의 2.7 ± 1.3 , 2.6 ± 1.4 , 5.6 ± 1.6 개에 비해 많았다($P < 0.05$, Fig. 6). 피부군에서는 Rexed 층별에 따른 차이 없이 고르게 fos-LI 양성 신경세포가 증가하였으나 피부-근육군의 경우 층 I-II와 V-VI에서 층 III-IV 비해 더 증가하였다($P < 0.05$).

고 찰

Hunt 등이³⁾ 말초의 유해성 자극에 대해 백서의 척수에서 단백질 fos가 발현된다고 보고한 이후 통증연구에서 c-fos가 널리 사용되고 있다. 이들 연구에서 c-fos는 주로 유해자극에 의해 활성화되는 신경세포의 표식자로서 사용되는데 이는 fos-LI 양성 신경세포가 염색되는 위치가 전기생리학적인 연구 또는 경로추적법(track-tracing method)을 사용한 연구로 밝혀져 있는 통증의 전달경로와 일치하기 때문이다.¹⁵⁻¹⁷⁾ 유

해 자극이 주어진 후 c-fos를 발현하는 척수신경세포의 위치는 주로 Rexed 층 I, II의 외측, V, VI에 집중되어 있는데 이는 일차 구심성섬유의 경로 및 유해자극을 수용하는 신경세포의 분포와 일치한다.^{3,18,19)} 말초의 유해성 자극에 의해 c-fos를 발현하는 척수 신경세포는 뇌간과 시상에도 연결되어 있다.²⁰⁻²²⁾

통각을 연구하는데 c-fos 발현을 사용하면 많은 장점이 있다. 다른 방법에 비해 유해자극에 반응하는 신경세포의 위치를 파악하기 쉽고 염색된 fos-LI의 개수를 셈으로써 간단히 신경세포의 활성도를 정량할 수 있으며 전기생리학적 연구방법과는 달리 유해자극을 가하는 동안 마취를 하거나 동물을 묶을 필요가 없는 것이다.²²⁻²⁴⁾ 한편 단점은 c-fos를 발현시키려면 일정수준 이상의 강한 유해 또는 무해자극이 필요한 것과 활성화된 모든 신경세포에서 c-fos가 발현되지는 않는다는 것이다.²⁵⁻²⁸⁾

수술적 절개에 의한 통증을 제외한 다양한 통증에 대해 c-fos 발현이 연구되었다. Abbadie 등은²⁹⁾ 열자극에 대한 c-fos 발현 연구에서 백서의 후족부를 44°C의 물에 담갔을 때 c-fos 발현이 증가하지 않았지만 65°C의 뜨거운 물에 담갔을 때는 L₄ 분절의 신경세포에서 c-fos 발현이 증가되었고 morphine을 미리 정주하였을 때는 그 증가 정도가 작았다고 하였다. 백서의 후족부에 열자극 뿐 아니라 냉자극을 가하여도 L₄ 분절의 신경세포에서 c-fos 발현이 증가된다.³⁰⁾ 신경병증성 통증에 의해서도 c-fos가 발현되는데 Narita 등은⁸⁾ 백서의 좌골신경을 묶으면 시상과 수도관주위 회색질에서 c-fos 발현이 증가된다고 하였고 Huang과 Simpson도³¹⁾ 백서의 좌골신경을 묶고 90분 후에 L₁₋₅ 분절의 척수에서 c-fos 발현증가를 관찰하였다. 염증성 통증에 의한 c-fos 발현증가도 보고되었는데 Kitagawa 등은⁹⁾ 백서의 후족부에 Complete Freund's adjuvant (CFA)를 주사하여 염증을 유발하면 L₄₋₅ 척수분절에서 c-fos 발현이 증가된다고 하였다. 3% carrageenan을 후족부에 주사하면 c-fos 발현이 증가하고 이 현상은 항염증약물인 ketoprofen을 전처치 했을 때 차단된다는 보고도 있다.³²⁾

임상에서 나타나는 다양한 형태의 통증을 연구하기 위해 여러 가지 동물실험 모델이 사용되고 있으며 이중 백서 수술 후 통증모델은 수술 후 급성통증의 기전 연구에 널리 쓰이고 있다.^{10-11,33-35)} 이 모델에서 절개 후 통증으로 인한 기계적 통각과민은 절개 직후부터 나타나서 최소 2일간 지속되고 5일 정도 후에 정상으로 복귀하는데,^{10,11)} 사람에서 수술 후 감각과민과 기침 등에 의한 통증이 나타나는 기간과 유사하다.^{36,37)} 절개범위에 따라 통증의 세기도 다르게 나타나는데 피부와 근육을 같이 절개한 경우는 피부만 절개한 경우에 비해 수술 후 1-2일간 더 강한 통증이 나타난다.¹⁰⁾

본 실험에서 백서의 후족저를 절개한 후 4시간에 염색된 fos-LI 양성 신경세포 수는 하부요추부(L_{4,5})의 우측 척수에서 대조군에 비해 증가되었으나 다른 높이의 척수층에서는 변화가 없었다. 백서 후족저의 감각은 L₄와 L₅ 척수신경이 주로 담당하고 일부 L₃의 지배를 받으므로,³⁸⁾ 이 결과는 백서의 후족저를 절개했을 때 통증을 전달하는 신경세포에서만 c-fos 발현이 증가했다는 것을 의미하며 c-fos가 통증에 의해 활성화되는 신경세포의 표식자로서 사용될 수 있다는 이전의 보고들과 일치하는 것이다.^{21,22,39-41)} 그러나 본 연구가 이전의 연구들과 다른 점은 절개에 의한 급성통증으로 발현되는 c-fos를 연구하였고 피부만 절개한 경우와 피부-근육을 함께 절개한 경우를 비교 관찰하였다는 것이다. 한편 통계적 의미는 없었으나 4HRS에 상부요추부 척수후각에서 fos-LI 양성 신경세포가 증가된 양상을 보인 것은 L₃에 나타난 fos-LI 양성 신경세포의 영향이라고 생각할 수 있다.

fos-LI 양성 신경세포는 피부만 절개한 경우보다 피부와 근육을 같이 절개한 경우에 더 많이 증가되었다. 백서의 수술 후 통증모델에서 조직손상의 범위가 클 때 통증의 정도도 심해지므로 심한 통증이 있을 때 c-fos 발현이 더 증가되었다는 것을 의미한다. 이는 통각과민이나 이질통의 정도에 따라 c-fos가 발현되는 정도가 다르며 약한 통증보다 심한 통증이 있는 상태에서 c-fos가 더 많이 발현된다는 보고들과 일치하는 현상이다.^{3,5,29,30,42)}

통증행동을 같이 측정하지는 않았지만 Brennan 등에¹⁰⁾ 의 하면 이 모델에서 통증은 최소 3일 이상 지속된다. 그러나 하부요추의 fos-LI는 4HRS에 크게 증가했지만 POD1과 POD3에는 정상 수준으로 완전히 회복되었다. 이 절개에 의한 급성통증이 지속되는 기간에 비하여 c-fos가 발현되는 기간은 매우 짧다는 것을 의미한다. 백서 수술 후 통증모델 이외의 다른 통증모델에서도 이와 비슷한 결과를 보인 연구들이 있는데, 이들 연구에 따르면 포르말린이나 테레빈유의 자극성 물질을 후족저에 주사한 뒤 일시적으로 c-fos 발현이 증가하고 통증에 따른 행동양상의 변화는 그보다 오래 지속된다.^{5,6,43-45)} 말초신경 손상에 의한 신경병증성 통증으로 인한 c-fos 발현은 수 시간에서 수 일 동안 증가되지만 통증은 수 주간 지속되며⁴⁶⁾ 백서의 좌골신경 묶어 신경병증성 통증을 유발한 2주 후에는 c-fos 증가가 관찰되지 않는다는 보고도 있다.⁴²⁾ 이처럼 조직이나 신경 손상 후 c-fos 발현이 증가되는 기간이 통증이 지속되는 기간보다 짧다는 것은 c-fos 발현이 통증의 발현과는 밀접한 관계가 있지만 통증의 유지에는 중요한 영향을 미치지 않는다는 것을 의미한다. 그러나 다른 통증모델들에서 자극이 주어진 후 최소 수 일간 c-fos 발현증가가 지속된 것에 비하여 백서 수술 후 통증모델에서는 POD1부터 정상 수준으로 회복되어 c-fos 발현이 증가된 기간이 매우 짧았는데 그 원인에

대해서는 더 연구할 필요가 있다고 판단된다.

주어지는 자극의 종류에 따라 신경세포가 활성화되는 양상이 다르기 때문에 c-fos가 발현되는 Rexed 층도 다르게 나타난다. Lima 등은⁴⁷⁾ 화학적 자극, 열 자극 및 기계적 자극에 대한 c-fos 발현을 연구했는데 포르말린을 백서의 피하에 주입했을 때는 주로 층 I에서, 열자극을 가했을 때는 층 I과 층 II의 외측에서, pin-prick으로 기계적인 자극을 가했을 때는 층 I-V에 고르게 c-fos가 발현되었다고 하였다. 무해자극에 대해 발현되는 c-fos의 Rexed 층은 유해자극의 경우와는 다르게 나타난다. 부드러운 솔로 문지르거나 관절에 가벼운 자극을 가하면 c-fos는 층 II의 내측, III, IV에서 주로 발현된다.³⁾ 이와 비슷하게 백서를 보행시켰을 때 측각으로 발현되는 c-fos는 주로 층 II의 내측에서부터 층 IV까지 발현된다.³⁵⁾ 신경병증성 통증에 의한 c-fos 발현은 A β 섬유로부터 측각을 전달받는 층 II-IV에서 주로 나타난다.⁴⁸⁾ 척수후각의 얇은 층(층 I-II)에서 발현되는 c-fos는 유해성 자극과 관련이 있으며 층 II-IV에서 발현되는 c-fos는 유해성 또는 무해성 자극 모두와 관련되어 있다.⁴⁵⁾ 본 실험의 피부-근육군과 피부군에서도 c-fos가 발현되는 양상이 서로 다르게 나타났다. 피부군에서는 척수후각에서 층의 구별 없이 고르게 fos-LI 양성반응이 증가되었으나 피부-근육군에서는 층 III-IV에 비해 층 I-II와 V-VI에서 더 많은 fos-LI 양성반응을 보였다. 이런 차이점은 피부와 근육에서 오는 1차 구심성 통각전달의 차이 때문으로 사료되나 본 연구의 결과로는 정확히 알 수 없으며 이를 규명하기 위해서는 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

결론적으로 백서의 수술 후 통증모델 후 증가된 fos-LI 양성 신경세포의 척수 분포는 백서 후족저를 지배하는 구심성 신경세포의 분포와 일치하였다. 이는 절개에 의한 급성 통증을 연구할 때도 c-fos 발현이 활성화된 신경세포의 표식자로서 유용하다는 것을 의미한다. 절개범위에 따른 조직손상의 정도가 클수록 fos-LI 양성 신경세포가 더 많이 증가하여 통증의 정도를 정량화할 수 있다는 것도 c-fos를 이용한 연구의 장점이 될 수 있다. 조직손상의 정도에 따라 c-fos 발현의 Rexed 층 분포가 다른 점과 통증이 지속되는 기간에 비해 c-fos 발현이 증가되는 기간이 매우 짧다는 점에 대하여는 더 연구할 필요가 있다.

참 고 문 헌

1. Morgan JI, Curran T: Stimulus-transcription coupling in neurons: role of cellular immediate-early genes. *Trends Neurosci* 1989; 12: 459-62.
2. 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.

3. Hunt SP, Pini A, Evan G: Induction of c-fos-like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation. *Nature* 1987; 328: 632-4.
4. Morgan JI, Curran T: Immediate-early genes: ten years on. *Trends Neurosci* 1995; 18: 66-7.
5. Williams S, Evan GI, Hunt SP: Changing patterns of c-fos induction in spinal neurons following thermal cutaneous stimulation in the rat. *Neuroscience* 1990; 36: 73-81.
6. Bai ZT, Chen B, Zhang XY, Fan GL, Ji YH: c-fos expression in rat spinal cord induced by scorpion BmK venom via plantar subcutaneous injection. *Neurosci Res* 2002; 44: 447-54.
7. Dai Y, Iwata K, Kondo E, Morimoto T, Noguchi K: A selective increase in fos expression in spinal dorsal horn neurons following graded thermal stimulation in rats with experimental mono-neuropathy. *Pain* 2001; 90: 287-96.
8. Narita M, Ozaki S, Narita M, Ise Y, Yajima Y, Suzuki T: Change in the expression of c-fos in the rat brain following sciatic nerve ligation. *Neurosci Lett* 2003; 352: 231-3.
9. Kitagawa J, Kanda K, Sugiura M, Tsuboi Y, Ogawa A, Shimizu K, et al: Effect of chronic inflammation on dorsal horn nociceptive neurons in aged rats. *J Neurophysiol* 2005; 93: 3594-604.
10. Brennan TJ, Vandermeulen EP, Gebhart GF: Characterization of a rat model of incisional pain. *Pain* 1996; 64: 493-501.
11. Wang YX, Pettus M, Gao D, Phillips C, Scott Bowersox S: Effects of intrathecal administration of ziconotide, a selective neuronal N-type calcium channel blocker, on mechanical allodynia and heat hyperalgesia in a rat model of postoperative pain. *Pain* 2000; 84: 151-8.
12. Zahn PK, Gysbers D, Brennan TJ: Effect of systemic and intrathecal morphine in a rat model of postoperative pain. *Anesthesiology* 1997; 86: 1066-77.
13. Chowdhury GM, Fujioka T, Nakamura S: Induction and adaptation of fos expression in the rat brain by two types of acute restraint stress. *Brain Res Bull* 2000; 52: 171-82.
14. Molander C, Xu Q, Grant G: The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the rat. I. The lower thoracic and lumbosacral cord. *J Comp Neurol* 1984; 230: 133-41.
15. Besson JM, Chaouch A: Peripheral and spinal mechanisms of nociception. *Physiol Rev* 1987; 67: 67-186.
16. Willis WD: The origin and destination of pathways involved in pain transmission. In: *Textbook of Pain*. 2nd ed. Edited by Wall PD, Melzack R: New York, Churchill Livingstone. 1989, pp 112-27.
17. Willis WD, Coggeshall RE: Sensory mechanisms of the spinal cord. 2nd ed. New York, Plenum. 1991.
18. Bullitt E: Somatotopy of spinal nociceptive processing. *J Comp Neurol* 1991; 312: 279-90.
19. Presley RW, Menetrey D, Levine JD, Basbaum AI: Systemic morphine suppresses noxious stimulus-evoked fos protein-like immunoreactivity in the rat spinal cord. *J Neurosci* 1990; 10: 323-35.
20. Jasmin L, Wang H, Tarczy-Hornoch K, Levine JD, Basbaum AI: Differential effects of morphine on noxious stimulus-evoked fos-like immunoreactivity in subpopulations of spinoparabrachial neurons. *J Neurosci* 1994; 14: 7252-60.
21. Menetrey D, Gannon A, Levine JD, Basbaum AI: Expression of c-fos protein in interneurons and projection neurons of the rat spinal cord in response to noxious somatic, articular, and visceral stimulation. *J Comp Neurol* 1989; 285: 177-95.
22. Tavares I, Lima D, Coimbra A: Neurons in the superficial dorsal horn of the rat spinal cord projecting to the medullary ventrolateral reticular formation express c-fos after noxious stimulation of the skin. *Brain Res* 1993; 623: 278-86.
23. Harris JA, Westbrook RF, Duffield TQ, Bentivoglio M: fos expression in the spinal cord is suppressed in rats displaying conditioned hypoalgesia. *Behav Neurosci* 1995; 109: 320-8.
24. Harris JA: Using c-fos as a neural marker of pain. *Brain Res Bull* 1998; 45: 1-8.
25. Lima D, Avelino A: Spinal c-fos expression is differentially induced by brief or persistent noxious stimulation. *Neuroreport* 1994; 5: 1853-6.
26. Dragunow M, Faull R: The use of c-fos as a metabolic marker in neuronal pathway tracing. *J Neurosci Methods* 1989; 29: 261-5.
27. Bullitt E: Expression of c-fos-like protein as a marker for neuronal activity following noxious stimulation in the rat. *J Comp Neurol* 1990; 296: 517-30.
28. Willis WD: The pain system. The neural basis of nociceptive transmission in the mammalian nervous system. *Pain Headache* 1985; 8: 1-346.
29. Abbadie C, Honore P, Fournie-Zaluski MC, Roques BP, Besson JM: Effects of opioids and non-opioids on c-fos-like immunoreactivity induced in rat lumbar spinal cord neurons by noxious heat stimulation. *Eur J Pharmacol* 1994; 258: 215-27.
30. Todd AJ, Spike RC, Young S, Puskar Z: fos induction in lamina I projection neurons in response to noxious thermal stimuli. *Neuroscience* 2005; 131: 209-17.
31. Huang W, Simpson RK Jr: Antisense of c-fos gene attenuates fos expression in the spinal cord induced by unilateral constriction of the sciatic nerve in the rat. *Neurosci Lett* 1999; 263: 61-4.
32. Buritova J, Honore P, Besson JM: Ketoprofen produces profound inhibition of spinal c-fos protein expression resulting from an inflammatory stimulus but not from noxious heat. *Pain* 1996; 67: 379-89.
33. Zhu CZ, Hsieh G, Ei-Kouhen O, Wilson SG, Mikusa JP, Hollingsworth PR, et al: Role of central and peripheral mGluR5 receptors in post-operative pain in rats. *Pain* 2005; 114 : 195-202.
34. Pogatzki EM, Gebhart GF, Brennan TJ: Characterization of A δ - and C-fibers innervating the plantar rat hindpaw one day after an incision. *J Neurophysiol* 2002; 87: 721-31.
35. Zahn PK, Brennan TJ: Intrathecal metabotropic glutamate receptor antagonists do not decrease mechanical hyperalgesia in a rat model of postoperative pain. *Anesth Analg* 1998; 87: 1354-9.
36. Tverskoy M, Cozacov C, Ayache M, Bradley EL Jr, Kissin I: Postoperative pain after inguinal herniorrhaphy with different types of anesthesia. *Anesth Analg* 1990; 70: 29-35.
37. Schulze S, Roikjaer O, Hasselstrom L, Jensen NH, Kehlet H: Epidural bupivacaine and morphine plus systemic indomethacin

- eliminates pain but not systemic response and convalescence after cholecystectomy. *Surgery* 1988; 103: 321-7.
38. Takahashi Y, Nakajima Y: Dermatomes in the rat limbs as determined by antidromic stimulation of sensory C-fibers in spinal nerves. *Pain* 1996; 67: 197-202.
39. Jasmin L, Gogas KR, Ahlgren SC, Levine JD, Basbaum AI: Walking evokes a distinctive pattern of fos-like immunoreactivity in the caudal brainstem and spinal cord of the rat. *Neuroscience* 1994; 58: 275-86.
40. Shimode N, Fukuoka T, Tanimoto M, Tashiro C, Tokunaga A, Noguchi K: The effects of dexmedetomidine and halothane on fos expression in the spinal dorsal horn using a rat postoperative pain model. *Neurosci Lett* 2003; 343: 45-8.
41. Tsuda M, Koizumi S, Inoue K: Role of endogenous ATP at the incision area in a rat model of postoperative pain. *Neuroreport* 2001; 12: 1701-4.
42. Catheline G, Le Guen S, Honore P, Besson JM: Are there long-term changes in the basal or evoked fos expression in the dorsal horn of the spinal cord of the mononeuropathic rat? *Pain* 1999; 80: 347-57.
43. Bai ZT, Zhang XY, Ji YH: fos expression in rat spinal cord induced by peripheral injection of BmK I, an alpha-like scorpion neurotoxin. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003; 192: 78-85.
44. Honore P, Buritova J, Besson JM: Carrageenin-evoked c-fos expression in rat lumbar spinal cord: the effects of indomethacin. *Eur J Pharmacol* 1995; 272: 249-59.
45. Nackley AG, Makriyannis A, Hohmann AG: Selective activation of cannabinoid CB(2) receptors suppresses spinal fos protein expression and pain behavior in a rat model of inflammation. *Neuroscience* 2003; 119: 747-57.
46. Munglani R, Hudspeth MJ, Fleming B, Harrison S, Smith G, Bountra C, et al: Effect of pre-emptive NMDA antagonist treatment on long-term fos expression and hyperalgesia in a model of chronic neuropathic pain. *Brain Res* 1999; 822: 210-9.
47. Lima D, Avelino A, Coimbra A: Differential activation of c-fos in spinal neurones by distinct classes of noxious stimuli. *Neuroreport* 1993; 4: 747-50.
48. Ro LS, Li HY, Huang KF, Chen ST: Territorial and extra-territorial distribution of fos protein in the lumbar spinal dorsal horn neurons in rats with chronic constriction nerve injuries. *Brain Res* 2004; 1004: 177-87.