

체성감각정보처리 과정의 이상으로 인한
촉각정보의 전환에 관한 연구

Studies on changes in touch sensation as a consequence of
the abnormal information processing in the somatosensory
system

연세대학교

과학기술부

제 출 문

과학기술부 장관 귀하

본 보고서를 “체성감각정보처리 과정의 이상으로 인한 촉각정보의 전환에 관한 연구”과제 (단독과제) 의 보고서로 제출합니다.

20001. 9. 22

주관연구기관명 : 연세대학교

주관연구책임자 : 임 중 우

연 구 원 : 심 범

연 구 원 : 배 정 윤

요 약 문

I. 제 목

체성감각정보처리 과정의 이상으로 인한 촉각정보의 전환에 관한 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

가. 목적

체성감각정보 처리과정의 이상으로 인한 촉각정보의 통각정보로의 전환에 관한 기전을 밝히고 이러한 전환을 정상상태로 환원시킬 수 있는 방법 개발을 위한 정보를 제공함.

나. 필요성

체성감각계는 우리가 일상생활을 하면서 흔히 접하는 촉각, 통각 및 온도감각 등에 관한 자극 정보를 처리하여 궁극적으로는 이들 감각을 인식하는데 관여한다. 외부적으로나 내적 요인에 의하여 신경계의 일부가 충격이나 손상을 받는 경우에는 체성감각계의 이상이 유도되며 그 결과 비정상적으로 체성감각을 인식하게된다. 이는 체성감각정보의 전달과정에서의 이상이 발생하였기 때문으로써 인간의 정상적인 행동양식이나 리듬을 제한하는 결과를 초래하기도 한다. 특히 촉각자극에 관한 정보가 그 처리과정의 이상으로 인하여 통각정보로 전환되어 인식된다면 이는 육체적 및 정신적으로 심각한 문제를 야기시킬 수 있다. 즉 실제로 미약한 촉각자극을 과장된 통각으로 인지하여 고통받는 경우가 존재하며 또한 수많은 유해성자극 환경에 노출된 현대인으로서 체성감각계의 비정상적 발현에 직면할 가능성이 높아질 수밖에 없다. 따라서 체성감각정보 처리과정에서의 비정상적인 전환에 관한 문제는 적극적으로 해결되어야함은 주지의 사실이나 이에 관한 연구는 아직 미미한 상태이다. 문제점을 해결을 위해서는 우선 체성감각정보 처리과정의 이상에 관한 기전을 밝혀내고 다음 이에 기초하여 효과적인 예방책이나 해결방법에 관한 기술을 개발해야 할 것이다.

체성감각정보가 신경계 내에서 말초로부터 대뇌피질로 전달되는 과정에는 정보전달의 중계소 역할을 하는 뇌부위(즉 척수, 뇌간 및 시상)가 존재하는데, 이들은 체성감각 신경로를 따라 전달되는 정보를 조절하는 핵심적인 부위으로써 이곳에서 전달체계의 이상이 발생할 수 있다. 이들 부위중 한 부위에서의 이상은 나머지 다른 부위에도 영향을 주어 이상을 발현시키게된다. 따라서 이들 각 부위를 대상으로 정보전달양상의 변화를 체계적으로 조사함은 체성감각계 이상에 의한 정보 전환에 관한 기전을 규명하기 위해서는 필연적인 과정이다.

한편 체성감각정보 전환에 관한 기전이 규명되고 이에 근거하여 효과적인 예방책이나 해결방법에 관한 기술을 개발함은 아직까지 세계적으로도 이러한 기술개발이 전혀 이루어지지 않고 있는 현 시점에서 국제적인 특히 획득과 같은 고부가치의 기술 창출이라는 경제적인 파급 효과를 유도할 수 있으며, 인간의 건강상태를 증진시키고 더 나아가서는 삶의 질을 향상시켜 주어 육체적으로나 정신적으로 높은 활동도를 유지시켜 줌으로써 산업발전에 공헌할 수 있다는 측면에서 그 필요성이 강조된다.

Ⅲ. 연구개발의 내용 및 범위

가. 체성감각정보 처리 이상에서 척수 내 처리과정 규명

- ① 척수손상에 의한 척수후각 신경세포의 축삭 및 통각자극에 대한 반응도 특성 변화에 관한 실험
- ② 척수후각세포 반응도 변화에 있어서 GABA성 체계 및 Glu성 체계의 작용 조사
- ③ 척수후각세포 반응도 변화에 있어서 신경성장 인자의 역할 조사

나. 체성감각정보 처리 이상에서 시상 내 처리과정 규명

- ① VPL 시상핵 세포의 반응도 변화에 관한 실험
- ② VPL 시상핵 세포의 반응도 변화에서 GABA성 체계 및 Glu성 체계의 작용 조사
- ③ VPL 시상핵 세포의 반응도 변화에서 신경성장 인자의 역할조사

다. 체성감각정보 처리 이상에서 척수손상 반대측 경로를 통한 처리과정 규명

- ① 손상 반대측 척수와 동측 시상 내 신경세포의 반응도 특성 조사
- ② 손상 반대측 척수세포의 반응도 변화 유도에 관련된 신경화학계 규명
- ③ 손상 동측 시상핵세포의 반응도 변화 유도에 관련된 신경화학계 규명

Ⅳ. 연구개발결과

가. 척수손상에 의한 행동양식변화와 척수후각뉴런의 반응도 특성 변화조사

- ① 척수손상 후 뒷다리 모두에서 이질통 유사 통각반응이 유도됨을 관찰
- ② 척수손상 후 척수내 통각정보전달에 관여하는 WDR과 HT형 뉴런에서 축삭과 통각자극에 대한 반응도가 모두 항진됨을 관찰

나. 척수후각뉴런의 반응도 변화에서 GABA성 체계의 작용조사

- ① 이질통 유사 통각반응이 척수에 가해진 GABA 의해 억제됨을 관찰
- ② 척수후각뉴런의 반응도 항진에는 GABA-A와 GABA-B수용체 모두가 관여함을 관찰
- ③ 척수손상에 의한 이질통 유발에는 척수 내 GABA성 체계의 손실이 한 원인임을 밝힘

다. 척수후각뉴런의 반응도 변화에서 흥분성아미노산 수용체의 역할조사

- ① 이질통 반응은 척수에 가해진 glutamate 수용체 억제제에 의해 억제됨을 관찰
- ② 척수후각뉴런의 항진된 반응도는 MK-801과 NBQX에 의하여 억제됨을 관찰
- ③ 척수 내 glutamate성 체계 역시 이질통 반응 유발에 관여함을 밝힘

라. 척수후각뉴런의 반응도 변화에서 신경성장인자의 역할조사

- ① 이질통 반응은 anti-NGF 처리에 의하여 그 유발이 억제됨을 관찰
- ② Anti-NGF 처리는 척수손상에 의한 척수후각뉴런의 반응도 항진을 억제함을 관찰
- ③ 이질통 유발에는 척수 내에서 뉴런의 비정상적인 성장이 관여함을 밝힘

마. 시상핵뉴런의 반응도 변화에서 GABA성 체계의 작용조사

- ① 척수손상 후 VPL 시상핵뉴런의 반응도 역시 양쪽 모두 항진됨을 관찰
- ② 시상핵뉴런의 항진된 반응은 제3뇌실에 가해진 GABA에 의하여 억제됨을 관찰
- ③ 이질통 유발에는 시상핵 내 GABA성 체계의 손실도 일부 관여함을 밝힘

바. 시상핵뉴런의 반응도 변화에서 흥분성아미노산 수용체의 역할조사

- ① 시상핵뉴런의 항진된 반응은 제3뇌실에 주입해준 glutamate 수용체 억제제(MK-801와 NBQX)에 의하여 억제됨을 관찰
- ② 이질통 유발에는 시상핵뉴런 자체의 glutamate성 체계를 통한 과민감화가 관여함을 밝힘

사. 시상핵뉴런의 반응도 변화에서 신경성장인자의 역할조사

- ① 시상핵뉴런의 항진된 반응은 anti-NGF의 처리에 의하여 억제됨을 관찰
- ② 이질통 유발에는 시상핵 내 뉴런의 비정상적인 성장 역시 관여함을 밝힘

V. 연구개발결과의 활용계획

연구결과는 체성감각계의 이상에 의하여 발생하는 촉각정보처리체계의 통각정보처리체계의 비정상적인 전환은 GABA성 체계의 손실, glutamate성 체계의 활성화, 신경세포들의 비정상적인 성장에 따른 신경망의 변화가 중요한 요인이며 이러한 변화는 척수 내에서 뿐 아니라 시상핵 내에서도 능동적으로 생성될 수 있음을 보여준다. 이는 체성감각계의 비정상적인 정보처리 기전을 설명하기 위한 정보를 제공해준다. 이러한 정보는 체성감각계를 포함한 신경계 전반에 걸쳐서 흔히 관찰되는 신경가소성에 관한 의문점을 해결할 수 있는 단서로써 이용할 것이다. 또한 신경계 내에서의 정보처리과정의 이상을 정상상태로 환원시킬 수 있는 방법을 개발하기 위한 기초자료로써 활용할 것이다.

S U M M A R Y

The somatosensory system is capable of perceiving various somatosensory modalities separately from each other. This is because particular somatosensory modality is recognized via a unique neural pathway reserved for each modality. For example, tactile information is processed via the tactile pathway and pain information is via the pain pathway. However, when the nervous system is insulted by trauma, normal information processing is affected so that somatosensory function would become abnormal. One of the devastating consequences of such an abnormal processing would be the change of tactile sensation into pain sensation. Little studies have been made on this matter. The spinal cord dorsal horn and the ventroposteriorlateral (VPL) nucleus of the thalamus are the important relay sites for ascending somatosensory information. This study was conducted using animal preparation to investigate how the somatosensory system in these relay sites is affected following the spinal cord injury (SCI).

Male Sprague-Dawley rats were used in this study. For SCI, the spinal cord was hemisectioned at T13 on the left side. Behavioral testing representing mechanical allodynia was performed on the hind paw using a von Frey filament (2.5 g). Neural activities were recorded extracellularly from neurons in the spinal cord dorsal horn or VPL thalamus. Involvement of GABAergic and Glutamatergic systems in mediating the information processing change was investigated with the use of GABA receptor agonists and Glutamate receptor antagonists. Nerve growth factor involvement was also examined.

After spinal cord hemisection, behavioral sign of mechanical allodynia has developed in both sides of feet and maintained as long as 30 days of the testing period. In spinal cord dorsal horns of these rats, wide dynamic range (WDR) neurons, which responded to both painful and non-painful stimuli applied to cutaneous receptive fields, were observed to increase in their responsiveness as compared with those of normal rats. Mechanical allodynia behavior was suppressed by intrathecal administration of either GABA-A agonist, muscimol, or GABA-B agonist, baclofen. Each of these agonists also suppressed the enhanced responsiveness of spinal WDR neurons. A similar suppression in both behavioral sign and neuronal responsiveness was observed when either NMDA antagonist, MK-801, or non-NMDA antagonist, NBQX, but not metabotropic Glutamate receptor antagonist, MCPG, was applied. The same situation as in the spinal cord dorsal horn was observed to take place in VPL thalamic nucleus: neuronal responsiveness of thalamic WDR neurons was enhanced; this enhancement was suppressed by treatment with either GABA receptor agonists, glutamate receptor antagonists, or anti-NGF.

The results suggest that SCI induces neurons in both the spinal cord dorsal horn and the VPL nucleus of the thalamus to become hyperactive through the recruitment of glutamate receptor activation, a loss of GABAergic interneurons, and axonal sprouting. The hyperactivity of neurons in these two relay stations may contribute to the development of abnormal information processing in the somatosensory system such as a switch from tactile information to painful perception.

C O N T E N T S

Chapter 1. Introduction	8
Section 1. Purposes	8
Section 2. Significances	8
Section 3. Ranges of research to be done	9
Chapter 2. Current research situations	10
Section 1. Current situations of interested research fields	10
Section 2. Status of results in interested research fields	11
Chapter 3. Experimental methods and results	12
Section 1. Methods	12
Section 2. Descriptions	14
Section 3. Results	14
Chapter 4. Accomplishments and contributions	32
Section 1. Specific aims	32
Section 2. Accomplishments of specific aims	32
Section 3. Contributions of results to interested research fields	33
Chapter 5. Applications of experimental results	34
Chapter 6. References	35

목 차

제 1 장 서론	8
제 1 절 연구개발의 목적	8
제 2 절 연구개발의 필요성	8
제 3 절 연구 범위	9
제 2 장 국내외 기술개발 현황	10
제 1 절 국·내외 관련분야에 대한 기술개발현황	10
제 2 절 연구결과가 국·내외 기술개발현황에서 차지하는 위치	11
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	12
제 1 절 실험방법	12
제 2 절 연구내용	14
제 3 절 연구결과	14
제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도	32
제 1 절 연도별 연구목표	32
제 2 절 평가착안점에 입각한 연구개발목표의 달성도	32
제 3 절 관련분야의 기술발전예의 기여도	33
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	34
제 6 장 참고문헌	35

제 1 장 서론

제 1 절 연구개발의 목적

본 연구의 목적은 체성감각정보 처리과정의 이상으로 인한 촉각정보의 통각정보로의 전환에 관한 기전을 밝히고 이러한 전환을 정상상태로 환원시킬 수 있는 방법 개발을 위한 정보를 제공한다.

제 2 절 연구개발의 필요성

체성감각계는 우리가 일상생활을 하면서 흔히 접하는 촉각, 통각 및 온도감각 등에 관한 자극 정보를 처리하여 궁극적으로는 이들 감각을 인식하는데 관여한다. 외부적으로나 내적 요인에 의하여 신경계의 일부가 충격이나 손상을 받는 경우에는 체성감각계의 이상이 유도되며 그 결과 비정상적으로 체성감각을 인식하게된다. 이는 체성감각정보의 전달과정에서의 이상이 발생하였기 때문으로써 인간의 정상적인 행동양식이나 리듬을 제한하는 결과를 초래하기도 한다. 특히 촉각자극에 관한 정보가 그 처리과정의 이상으로 인하여 통각정보로 전환되어 인식된다면 이는 육체적 및 정신적으로 심각한 문제를 야기시킬 수 있다. 즉 실제로 미약한 촉각자극을 과장된 통각으로 인지하여 고통받는 경우가 존재하며 또한 수많은 유해성자극 환경에 노출된 현대인으로서 체성감각계의 비정상적 발현에 직면할 가능성이 높아질 수밖에 없다. 따라서 체성감각정보 처리과정에서의 비정상적인 전환에 관한 문제는 적극적으로 해결되어야함은 주지의 사실이나 이에 관한 연구는 아직 미미한 상태이다. 문제점을 해결을 위해서는 우선 체성감각정보 처리과정의 이상에 관한 기전을 밝혀내고 다음 이에 기초하여 효과적인 예방책이나 해결방법에 관한 기술을 개발해야 할 것이다.

체성감각정보가 신경계 내에서 말초로부터 대뇌피질로 전달되는 과정에는 정보전달의 중계소 역할을 하는 뇌부위(즉 척수, 뇌간 및 시상)가 존재하는데, 이들은 체성감각 신경로를 따라 전달되는 정보를 조절하는 핵심적인 부위로써 이곳에서 전달체계의 이상이 발생할 수 있다. 이들 부위중 한 부위에서의 이상은 나머지 다른 부위에도 영향을 주어 이상을 발현시키게된다. 따라서 이들 각 부위를 대상으로 정보전달양상의 변화를 체계적으로 조사함은 체성감각계 이상에 의한 정보 전환에 관한 기전을 규명하기 위해서는 필연적인 과정이다.

한편 체성감각정보 전환에 관한 기전이 규명되고 이에 근거하여 효과적인 예방책이나 해결방법에 관한 기술을 개발함은 아직까지 세계적으로도 이러한 기술개발이 전혀 이루어지지 않고 있는 현 시점에서 국제적인 특허 획득과 같은 고부가가치의 기술 창출이라는 경제적인 파급 효과를 유도할 수 있으며, 인간의 건강상태를 증진시키고 더 나아가서는 삶의 질을 향상시켜 주어 육체적으로나 정신적으로 높은 활동도를 유지시켜 줌으로써 산업발전에 공헌할 수 있다는 측면에서 그 필요성이 강조된다.

제 3 절 연구 범위

가. 체성감각정보 처리 이상에서 척수 내 처리과정 규명

- ① 척수손상에 의한 척수후각 신경세포의 축삭 및 통각자극에 대한 반응도 특성 변화에 관한 실험
- ② 척수후각세포 반응도 변화에 있어서 GABA성 체계 및 Glu성 체계의 작용 조사
- ③ 척수후각세포 반응도 변화에 있어서 신경성장 인자의 역할 조사

나. 체성감각정보 처리 이상에서 시상 내 처리과정 규명

- ① VPL 시상핵 세포의 반응도 변화에 관한 실험
- ② VPL 시상핵 세포의 반응도 변화에서 GABA성 체계 및 Glu성 체계의 작용조사
- ③ VPL 시상핵 세포의 반응도 변화에서 신경성장 인자의 역할조사

다. 체성감각정보 처리 이상에서 척수손상 반대측 경로를 통한 처리과정 규명

- ① 손상 반대측 척수와 동측 시상 내 신경세포의 반응도 특성 조사
- ② 손상 반대측 척수세포의 반응도 변화 유도에 관련된 신경화학계 규명
- ③ 손상 동측 시상핵세포의 반응도 변화 유도에 관련된 신경화학계 규명

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국·내외 관련분야에 대한 기술개발현황

촉각정보의 통각정보로의 비정상적인 전환은 말초나 중추 신경계가 손상 받은 후에 종종 발생한다. 이러한 비정상적인 통증을 신경병증성 통증이라 한다. 신경병증성 통증은 손상 받은 부위가 어디인가에 따라 말초 또는 중추 신경병증성 통증으로 구분된다. 즉, 말초신경이나 신경근의 손상은 말초 신경병증성을, 그리고 척수를 포함하는 중추신경계의 손상은 중추 신경병증성 통증을 유발한다. 이들 신경병증성 통증의 공통적인 증상에는 정상에서는 통증을 유발하지 않는 약한 자극에 의하여 유발되는 통증인 이질통(allodynia), 정상적인 통증을 유발하는 강도의 자극에 의하여 유발되는 더 큰 강도의 통증인 통각과민(hyperalgesia), 그리고 외부의 자극 없이 생성되는 자발적 통증(spontaneous pain) 등이 포함된다. 척수손상은 중추 신경병증성 통증의 대표적인 원인으로 알려져 있으나, 이러한 척수손상에 의한 중추 신경병증성 통증에 대한 병태생리학적인 기전에 대한 연구는 미미한 실정이다. 최근에는 척수손상 환자에서 자주 관찰되는 이질통, 통각과민, 그리고 자발적 통증과 유사한 통각행동을 보이는 여러 실험동물이 개발되어 이를 이용하여 척수손상에 의한 중추 신경병증성 통증의 기전을 밝히기 위한 연구가 시도되기 시작하고 있다.

정상상황에서 척수 내 통증정보 처리과정에 일차 구심섬유 말단에서 유리되는 glutamate와 같은 흥분성 신경전달물질이 관여함은 잘 알려진 사실이다. 척수 내에는 glutamate의 여러 수용체 아형인 ionotropic glutamate 수용체(iGluR), NMDA 및 non-NMDA 수용체, 그리고 G-protein 및 세포 내 2차 전달계와 관련 있는 metabotropic glutamate 수용체(mGluR)가 일차구심성섬유의 입력을 받는 척수의 laminae I-III에 분포함이 확인되었다(Tao 등 2000; Dingledine 등 1999; Coggeshall 및 Carlton 1997). 따라서, 척수 내에서 일차 구심섬유 말단으로부터 유리된 glutamate가 통증신호 전달에 관여하며 이들 구심섬유가 종지하는 척수 후각에 glutamate 수용체가 존재한다는 사실은 glutamate 수용체가 생리적인 환경에서 통증 조절에 관여할 가능성을 제시한다. 한편, 척수 내 glutamate 수용체의 활성화는 말초 신경손상 후 유발되는 신경병증성 통증의 중요한 요인이 될 수 있음이 제안되었다. 즉, 말초신경손상 후 척수의 양쪽에서 NMDA 수용체의 과도한 활성화가 유발됨이 관찰되었고(Sugimoto 등 1990), 말초신경손상 후 유발된 신경병증성통증 유사 통각행동은 수막강내로 주입한 glutamate 수용체 길항제에 의해 억제됨이 보고되었다(Lee 및 Yaksh 1995). 이들 결과는 NMDA 수용체의 과도한 활성화가 말초 신경병증성 통증 유발에 중요한 역할을 함을 시사한다. 또한 전기생리학적 연구 결과에 의하면, 말초 신경병증성 통각행동을 보이는 동물모델의 척수 내 후각신경세포의 반응도에서 유해자극에 의해 유발된 반응은 NMDA 수용체 길항제에 의하여 억제되는 반면에 무해자극에 의해 유발된 반응은 non-NMDA 수용체 길항제에 의하여 억제됨이 관찰되었다(Leem 등 1996). 말초신경 손상 후 초기에 수막강으로 주입한 mGluR 길항제가 이질통 유사 행동 유발을 억제한다는 것이 보고도 있다(Fisher 등 1998). 따라서, 말초 신경병증성 통증 유발에는 척수 내 glutamate 수용기 아형 모두가 관여하는 것으로 생각된다. 그러나, 척수 손상에 의한 중추 신경병증성 통증 유발에 glutamate 수용기 아형이 어떻게 관여하는지에 관해서는 아직 밝혀지지 않고 있다.

척수에서는 흥분성 전달물질뿐만 아니라 억제성 신경세포들이 존재하여 통각신호전달을 조절하고 있는 것으로 알려져 있다. GABA는 포유류의 중추신경계에서 대표적인 억제성 신경전달물질로서 중추신경계에서 관찰되는 전체 억제성 기능의 약 40%를 담당하고 있는 것

으로 알려지고 있다. 척수에서 GABA는 GABA_A와 GABA_B 수용체 아형을 통해 그 작용을 나타내는데 GABA_A 수용체는 ligand-gated Cl⁻ 통로를, 그리고 GABA_B 수용체는 G-protein을 통해 작용한다(Malcangio 및 Bowery 1996). 이들 GABA 수용체는 척수후각의 larmiae I~III에 주로 분포하며(Coggeshall 및 Carlton 1997), GABA를 함유하는 중간뉴런은 일차구심섬유의 말단 및 이차감각신경의 세포체나 수상돌기에 연결되어 있음이 관찰되는데(Magoul 등 1987; Todd 및 McKenzie, 1989; Todd 및 Lockhead, 1990), 이는 GABA 체계가 생리적 통증의 조절에 관여함을 시사한다. 한편, 말초신경 손상 후 신경병증성 통각행동을 보이는 동물모델에서 GABA성 신경세포가 척수후각에서 감소되었다는 형태학적인 연구 결과는(Ibuki 등 1997) 척수의 GABA성 중간뉴런의 손실이 중요한 통증 유발 요인일 것임을 시사한다. 말초 신경병증성 통증에 관여하는 척수 내 GABA 수용체 아형에 관해서는 비교적 자세히 연구되어져 있다. 즉, 말초신경 손상 후 유발되는 이질통 유사 통각행동은 수막강 내로 주입한 GABA_A와 GABA_B 수용체 효현제 모두에 의하여 억제되고(Hwang 및 Yaksh 1997), 기계적 통각과민 유사 통각행동은 수막강 내로 주입한 GABA_B 수용체 효현제에 의하여 억제됨이 관찰되었다(Patel 등 2001). 이들 결과 및 앞서 언급한 형태학적 결과는 말초신경 손상에 의해 유발되는 말초 신경병증성 통증에서 척수 내 GABA 중간뉴런의 손실이 통증 유발에 중요하며, 서로 다른 통증 증상에 두 GABA 수용체 아형이 다르게 관여할 것임을 시사한다. 한편, 척수의 허혈성 손상(ischemic injury)을 받은 동물에서도 통각행동이 유발되는데 이 동물의 척수후각에서는 GABA에 대한 면역활성(immunoreactivity)이 감소됨이 관찰되었다(Zhang 등 1994). 이는 척수손상에 의한 중추 신경병증성 통증의 경우에도 척수 내 GABA 체계의 손실이 통각행동 유발에 원인일 가능성을 제시한다. 하지만 이 가능성을 더욱 견고히 하기 위해서는 행동학적 연구와 전기생리학적 연구와 같은 추가적인 연구가 요구된다.

말초신경 손상 후 유발되는 말초 신경병증성 통증의 유발 원인은 전기생리학적, 행동학적, 그리고 형태학적인 연구 등 많은 연구보고에 의하여 비교적 자세히 알려져 있다. 하지만, 척수손상 후 유발되는 중추 신경병증성 통증에 관해서는 아직 연구가 미진하게 이루어지고 있는 실정이다.

제 2 절 연구결과가 국·내외 기술개발현황에서 차지하는 위치

본 연구를 통한 연구결과는 척수의 일측 손상 후 촉각자극의 통각정보로의 전환 인식에 관한 기전으로서 척수 내와 시상핵 내 체감각신경의 반응 특성의 전환을 조사하고 이러한 전환에 Glutamate성 체계의 활성화, GABA성 체계의 손실, 그리고 신경성장인자(NGF)의 작용 등이 중요하게 공헌할 것임을 보여줄 것이다. 이들 결과는 척수손상 후 자주 발생하는 중추성 통증의 발병기전을 밝히는데 기여할 것이며, 또한 이 질병에 대하여 예방, 치료, 그리고 관리를 위한 새로운 방법을 개발할 수 있는 정보를 제공해 준다는 측면에서 국·내외 기술개발현황에 중요한 위치를 차지하리라고 생각된다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 실험 방법

1. 동물모델 제작

실험동물로는 흰쥐(Sprague-Dawley, 200-250g)를 사용하여 척수의 T13 지역을 hemisection하였다. Enflurane(2-2.5%)으로 마취시킨 뒤 척추의 T11과 12 부위를 척수후궁 절제술을 하여 척수를 노출시킨 뒤 micro dissecting knife을 이용하여 척수 왼쪽의 T13 부위를 절단한 뒤 28-gauge needle을 사용하여 척수의 중심부에서 외측으로 당겨서 완전한 hemisection을 수행하였다. 수술에 의한 염증 생성을 방지하기 위하여 ampicillin 40 mg을 주사하였다. 실험 동물 모델이 정확히 이루어졌는지는 수술 후 마취에서 깨어난 다음 손상 받은 측의 운동기능이 소실되면 실험 모델이 정확히 이루어진 것으로 간주하였고 그 외의 지역에서 이상이 생긴 모델은 모두 제거하였다.

2. 행동학적 측정

행동학적 검사는 기계적 자극을 쥐의 뒷발에 무해한 자극을 인지되는 강도(2 g)의 von Frey hair을 사용하였다. 0.5×0.5cm 격자를 형성하는 철망 위에 투명한 아크릴 상자(8×8×24cm)를 올려놓은 뒤 이 안에 쥐를 넣은 후 30분간 적응시킨다. 이후 von Frey hair를 쥐 뒷발의 발바닥에 10초 간격으로 10번을 자극하여 회피하는 반응빈도를 측정하였다. 회피 빈도는 가해진 자극의 수에 대해 도피반응을 보이는 수의 빈도로 나타내었다.

3. 전기생리학적 신경활동 기록

가. 척수후각 신경세포 기록

단일 신경세포 활성도를 기록하기 위하여 pentobarbital sodium (40 mg/kg)을 쥐의 복강내에 투여하여 마취시키고 약물주입을 위해 경정맥과 인공호흡을 위해 기관에 삽관하였다. 척수후각 신경세포의 반응도를 기록하기 위해 배측 피부를 절개한 후 제12흉추에서 제4요추까지 후궁 절제술을 시행하여 척수를 노출시킨 뒤 머리와 척추를 정위고정대(stereotaxic frame)에 복와위로 고정하고 pancronium bromide(0.5 mg/kg/h, i.v.)을 주사해 근마비시킨 후 인공호흡기로 호흡시켰다. 인공호흡은 end-tidal CO₂농도가 3.5~4.5%로 유지되도록 조절하며 직장 내 온도는 servo-controlled heating pad를 이용해 37℃로 유지하였다.

척수 후각 신경세포의 반응도는 세포외 기록법으로 측정하였다. 단일 신경세포는 기계적 자극에 대한 반응도에 따라 brush에만 반응하는 세포를 LT (low threshold), brush에는 반응이 없거나 매우 미약한 반응을 보이거나 pressure와 pinch에 반응성이 잘 나타나는 세포를 HT (high threshold), 그리고 brush, pressure, 그리고 pinch의 일련의 자극을 주었을 때 자극 강도가 증가할수록 신경세포 반응도가 증가하는 세포를 WDR (wide dynamic range)형 신경세포로 분류하였다. 측정부위인 척수후각의 L4-L6 부위에 미세위치조절기(microdriver)를 이용하여 기록용 전극을 척수후각 내로 삽입하면서(150~850 μm), 말초 수용야에 기계적 자극(brush, pressure, pinch)에 의하여 유발되는 신경활동을 기록하였다. 단일 신경활동은 window discriminator를 이용하여 분리하였다. 단일 신경세포가 분리되면 각 자극을 10초간 가해줄 때 나타나는 신경세포 반응을 자료수집기(CED 1401)를 거친

후 컴퓨터에 입력시키고 방전수분석 프로그램 (Spike 2 program)을 이용하여 분석하였으며 각 자극사이에 20초간의 회복시간을 주었다.

나. 시상핵 신경세포 기록

동물의 머리 뒤쪽 털을 면도한 뒤, 기록하는 부위가 고정되도록 뇌 정위 장치에 머리를 고정하였다. 실험 중 뇌 부종(brain edema)이 발생하는 것을 방지하고 제 3 뇌실로 주입한 약물이 척수로 흘러가는 것을 방지하기 위하여, 거대수조(cistern magna) 윗 부분 뇌막을 찢고 탈지면을 이용하여 뇌척수액을 배출시켰다. 뒷머리 부위의 피부 및 결합조직을 제거한 다음, 배쪽후외측시상핵에 전극을 삽입하기 위하여 쥐의 뇌지도(Paxinos and Watson, 1986)을 근거로 하여 브레그마를 영점으로 외측 3mm, 후측 3mm되는 점을 중심으로 드릴을 이용해 두개골에 직경 3-4mm 정도의 구멍을 내었다. 노출된 대뇌피질에서 경질막을 절제하고 마르지 않도록 mineral oil로 덮어주었다.

시상핵(특히, 배쪽후외측시상핵) 내 신경세포의 신경활동은 텅스텐전극(5 M Ω , 직경 10 μ m, A-M system, USA)을 사용하여 세포외기록법으로 기록하였다. 전극을 앞서 언급한 뇌 좌표 부위에서 대뇌피질표면으로부터 4000~6000 μ m 깊이에 존재하는 신경세포로부터 신경활동을 기록하였다. 전극에 의해 탐지된 신경활동은 10000배 증폭하여(DAM 80 Differential Amplifier; World Precision Instruments) 오실로스코프 화면상에서 관찰하였다. 또한 증폭된 여러 크기의 신경활동 신호로부터 window discriminator (World Precision Instruments)를 이용하여 동일한 크기를 가진 단일 신호를 분리하였으며, 단위 시간당 발생하는 단일 신경활동 신호의 개수는 data acquisition system과 spike2 program (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK)을 이용하여 PC 모니터 상에서 기록하였다. 시상핵 신경세포의 반응도 역시 후각 신경세포의 경우와 마찬가지로 말초수용야에 3개의 기계자극 (brush, press, pinch)을 가해주고 이에 대한 반응도의 양상을 조사하였다.

4. 약물처리

가. 수막강 내 주입

수막강내 약물의 주입을 위해 enflurane (유도 3%, 유지 2%) 마취하에 PE-10 (polyethylene tube)관을 연수의 대조(cisterna magna)에서 척수후각 요추의 L3 지역에 도달하도록 삽입하였다. 삽관 후 관의 한쪽 끝은 외부로 노출시킨후 피부를 봉합하였다. 각 약물은 이 노출된 관의 한쪽 끝을 통하여 주입하였다. 수막강내 주입용 억제성 약물로는 GABA (0.5 μ g/kg)와 GABA 수용체 아형 효현제 muscimol (GABA_A, 1 μ g/kg)과 baclofen (GABA_B, 0.5 μ g/kg)을 사용하였으며, 흥분성 약물로는 NMDA 수용체 길항제 MK-801 (50 μ g/kg), non-NMDA 수용체 길항제 NBQX (50 μ g/kg), metabotropic glutamate 수용체 길항제 MCPG (100 μ g/kg)를 사용하였다.

나. 제3뇌실 내 주입

시상핵세포의 신경활동에 대한 약물 효과를 조사하기 위하여 제3뇌실에 약물을 주입하였다. Hamilton 주사기를 정위고정용 조작기에 부착하고 뇌좌표도에 근거하여 제3뇌실에 접근시키고 이를 통하여 약물을 미세량 주입하였다(0.5~1 μ l). 약물주입 부위의 위치는 실험 후 뇌간조직을 microsection하여 확인하였다. 사용한 약물은 수막강내 주입의 경우와 같았다.

다. 척수표면 도포

척수후각 신경세포의 반응도에 대한 약물의 효과를 조사하기 위하여, 약물을 기록종인 척수표면에 도포해 주는 방법을 사용하였다. 이는 행동학적 검사 방법으로 사용된 수막강 내 주입 방법을 모방하는 방법으로 척수후궁절제술에 의해 노출된 척수에 약물을 떨어뜨리는 방법을 사용하였다. 사용된 약물로는 GABA (0.1 μ g/kg), muscimol (1 μ g/kg), baclofen (0.1 μ g/kg), MK-801 (50 μ g/kg), NBQX (50 μ g/kg), 그리고 MCPG (100 μ g/kg) 이었다.

라. 항신경성장물질(anti-NGF) 처리

실험군으로 hemisection을 받은 쥐에 anti-NGF (anti-nerve growth factor-2.5S, Sigma)를 처리하였는데, 이는 복강 내 주입(i.p., 2 μ g)으로 실시하였다. 주입은 수술하기 전 1시간 전과 수술 후 하루에 한번씩 10일 간 실시하였다.

5. 통계처리

신경세포의 반응도에 있어서 각 실험군 간의 차이는 Mann-Whitney rank sum test로 분석하고, 조직손상이나 약물주입과 같은 처리를 하기 전과 후 간의 차이는 Wilcoxon signed rank test로 분석하였다. P 값이 0.05 보다 작은 경우에 유의 있는 차이가 있다고 간주하였다.

제 2 절 연구내용

본 연구에서는 다음의 내용이 포함되었다.

1. 척수손상에 의한 행동양식변화와 척수후각뉴런의 반응도 특성 변화조사
2. 척수후각뉴런의 반응도 변화에서 GABA성 체계의 작용조사
3. 척수후각뉴런의 반응도 변화에서 흥분성아미노산 수용체의 역할조사
4. 척수후각뉴런의 반응도 변화에서 신경성장인자의 역할조사
5. 시상핵뉴런의 반응도 변화에서 GABA성 체계의 작용조사
6. 시상핵뉴런의 반응도 변화에서 흥분성아미노산 수용체의 역할조사
7. 시상핵뉴런의 반응도 변화에서 신경성장인자의 역할조사

제 3 절 연구결과

1. 척수손상에 의한 행동양식변화와 척수후각뉴런의 반응도 특성 변화조사

척수손상 후 통각 행동은 무해한 기계적 자극(Von Frey Filament, 2.0g)에 대해 회피반응을 보이는 이질통을 측정하였다. Hemisection 후 손상 측(ipsilateral)뿐만 아니라 손상 반대측(contralateral)에서도 회피반응이 증가하는 이질통이 유발되었으며 이는 무해한 자극이 유해한 자극으로 인식하여 회피반응을 보였다는 것을 의미한다(그림 1). 이러한 회피반응의 증가는 3달 정도 유지되었다. 하지만 손상 측과 손상 반대측간의 유의 있는 차이는 나타나지 않았다. 척수손상 후 이질통 유사 통각행동을 보이는 동물에서 척수후각 신경

세포의 기계적자극에 대한 반응도를 조사하였다. 기록중의 후각세포의 말초 수용야에 brush, press, pinch 자극을 가해주고 이에 대한 반응을 조사하였는데, 실험에서는 이들 세 자극에 대해 모두 반응을 하는 WDR형 뉴런을 중점적으로 택하였다. 척수 손상 후 이질통 유사 통각행동을 보이는 동물의 척수후각 내 존재하는 WDR형 뉴런은 정상 동물의 그것에 비하여 모든 자극에 대한 반응도가 항진되어 있었다(그림 2). 이러한 항진된 반응도는 척수 손상후 손상 측뿐만이 아니라 손상 반대측 모두에서 관찰되었다. 신경세포의 기록은 행동학적 검사에 의해 회피반응이 증가되어 있는 기간(2주에서 5주)동안에 기록하였다.

2. 척수후각뉴런의 반응도 변화에서 GABA성 체계의 작용조사

가. 행동학적 검사

척수손상 후 증가된 회피반응은 수막강 내로 주입한 GABA에 의하여 억제됨이 관찰되었다. 다음 단계로 이러한 GABA의 효과가 발휘되는데 있어서 관여하는 GABA 수용체 아형에 관하여 조사하였다. 그림 3은 척수손상 후 증가된 회피반응이 수막강내로 주입한 GABA-A나 GABA-B 수용체 아형의 효현제에 의한 효과를 보여준다. 수막강내로 주입한 GABA_A 수용체 아형 효현제인 muscimol(1 μ g/kg)과 GABA_B 수용체 아형 효현제인 baclofen (0.5 μ g/kg)은 모두 손상측과 손상반대측 모두에서 증가된 회피반응을 의의 있게 감소시켰다.

나. 전기생리학적 검사

GABA 수용체 아형 효현제가 척수손상 후 증가된 신경세포 반응도에 관여하는지를 extracellular recording으로 확인하였다. 척수손상 후 WDR형 신경세포의 증가된 반응도가 척수에 첨가해준 muscimol (1 μ g/kg)(그림 4)과 baclofen (0.1 μ g/kg)(그림 5)에 의해 손상측과 손상반대측 모두에 있어서 의의있게 감소하였다.

3. 척수후각뉴런의 반응도 변화에서 흥분성아미노산 수용체의 역할조사

가. 행동학적 검사

그림 6은 척수손상 후 증가된 회피반응이 수막강내로 주입한 여러 glutamate 수용체 아형의 효현제에 의한 효과를 보여준다. 수막강내로 주입한 ionotropic glutamate 수용체인 NMDA와 non-NMDA 수용체의 길항제인 MK-801(50 μ g/kg)과 NBQX(50 μ g/kg)은 모두 척수손상 후 증가된 회피반응이 의의있게 감소시켰으며, 이러한 감소효과는 손상측과 손상반대측 모두에서 관찰되었다. 하지만 metabotropic glutamate 수용체의 길항제인 MCPG (100 μ g/kg)은 증가된 회피반응에 아무런 효과를 발휘하지 못하였다.

나. 전기생리학적 검사

척수손상후 척수후각신경세포에서 유도된 항진된 반응도는 MK-801(NMDA 수용체 길항제, 50 μ g/kg)(그림 7)와 NBQX (non-NMDA 수용체 길항제, 50 μ g/kg)(그림 8)에 의하여 억제되었다. 이러한 억제효과는 손상측과 손상반대측 모두에서 관찰되었다. 하지만 metabotropic glutamate 수용체의 길항제인 MCPG(100 μ g/kg)(그림 9)는 항진된 반응도에 영향을 미치지 못했다.

4. 척수후각뉴런의 반응도 변화에서 신경성장인자의 역할조사

척수후각 WDR형 뉴런의 반응도를 수용야에 가해준 일련의 기계적 자극(brush, pressure, pinch)에 대해 조사하였다. WDR형 뉴런의 반응도는 척수손상 받은 쥐의 경우가 정상쥐에 비하여 3가지 자극 모두에서 항진되었다. 그러나 척수손상 시부터 10일 동안의

anti-NGF(i.p., 2 μ g)를 처리해 준 그룹에서의 척수후각뉴런의 반응도는 정상쥐의 그것과 거의 동일한 수준으로 반전되었음이 관찰되었다. 이러한 변화, 즉 척수손상 후 반응도의 항진과 척수손상 시 anti-NGF처리에 의한 반응도의 정상상태로 반전은 손상측과 손상반대측 모두에서 관찰되었다.

5. 시상핵뉴런의 반응도 변화에서 GABA성 체계의 작용조사

척수손상 후 이질통 유사 통각행동을 보이는 동물에서 시상핵(VPL) 내 신경세포의 기계적자극에 대한 반응도를 조사하였다. 기록중의 시상핵세포의 말초 수용야에 brush, press, pinch자극을 가해주고 이에 대한 반응을 조사하였다. 척수 손상 후 이질통 유사 통각행동을 보이는 동물의 VPL 시상핵 내 존재하는 WDR형 뉴런은 정상 동물의 그것에 비하여 모든 자극에 대한 반응도가 항진되어 있었고, LT형 뉴런은 특히 brush자극에 대한 반응이 현저히 항진되어 있었다(그림 11). 이러한 항진된 반응도는 척수 손상후 손상 측뿐만이 아니라 손상 반대측 VPL 시상핵 뉴런 모두에서 관찰되었다(그림 12). 신경세포의 기록은 행동학적 검사에 의해 회피반응이 증가되어 있는 기간(2주에서 5주)동안에 기록하였다. 척수손상 후 항진된 VPL 시상핵뉴런의 반응도는 제3뇌실에 가해준 GABA(1 μ g/kg)에 의하여 감소되었다(그림 13).

6. 시상핵뉴런의 반응도 변화에서 흥분성아미노산 수용체의 역할조사

척수손상 후 VPL 시상핵 내 WDR형 신경세포는 정상 쥐의 경우에 비하여 자발적 방전이 항진되었고 약한강도와 강한강도의 자극에 대한 반응도가 모두 항진되었다. 제3뇌실에 가해준 NMDA 수용체 길항제인 MK-801(50 μ g/kg)는 척수손상 후 유도된 자발성 방전의 항진과 강한자극에 대한 반응도 항진을 억제하였다(그림 14).

7. 시상핵뉴런의 반응도 변화에서 신경성장인자의 역할조사

그림 15에서 보듯이, VPL 시상핵 내 WDR형 신경세포의 반응도는 척수손상 받은 쥐의 경우가 정상쥐에 비하여 자발적 방전과 3가지 자극에 대한 반응도 모두에서 항진되었다. 그러나 척수손상 시부터 10일 동안의 anti-NGF(i.p., 2 μ g)를 처리해 준 그룹에서의 척수후각뉴런의 반응도는 정상쥐의 그것과 거의 동일한 수준으로 반전되었다. 이러한 anti-NGF처리는 자발적 방전에는 영향을 미치지 않았다.

Time course of hind-paw withdrawals

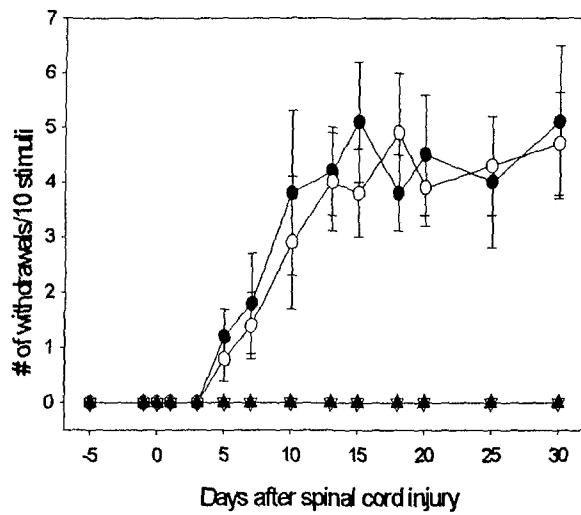


그림 1. 쥐의 한쪽 척수에 손상을 가한 후 시간 경과에 따른 기계자극에 대한 뒷발의 도피 반사 변화. 무해한 기계적 자극(Von Frey Filament, 2.0g)에 대해 회피반응은 이질통 유사 통각행동으로 간주하였다. 척수손상을 받은 동물의 경우(원), 손상받은 쪽(검은색)과 손상 받지 않은 쪽(흰색) 모두에서 통각행동이 유도되었다. 정상동물의 경우는(삼각형) 전혀 회피반응을 보이지 않았다.

Responsiveness of DH neurons

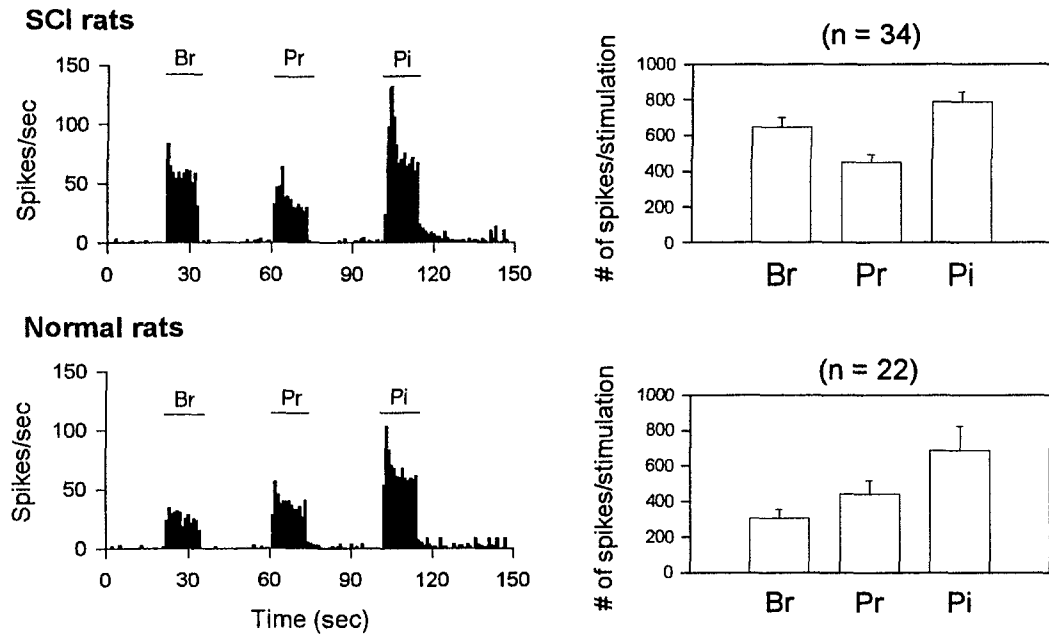
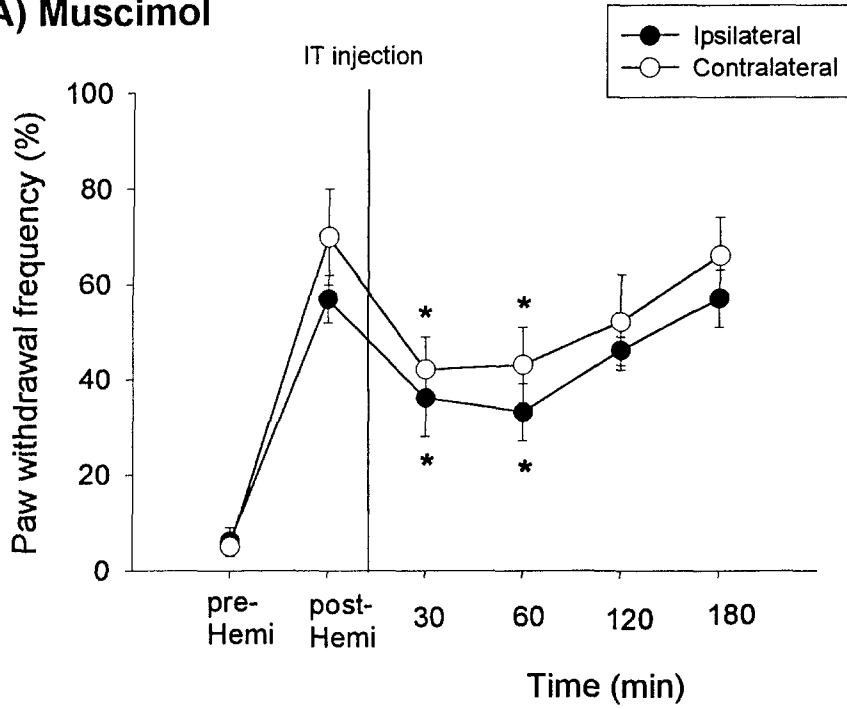


그림 2. 척수손상 쥐와 정상 쥐의 척수후각뉴런의 반응도간의 비교. 척수 손상 후 이질통 유사 통각행동을 보이는 동물(SCI rats)의 척수후각 내 존재하는 WDR형 뉴런은 정상 동물(Normal rats)의 그것에 비하여 모든 자극에 대한 반응도가 항진되어 있었다.

A) Muscimol



B) Baclofen

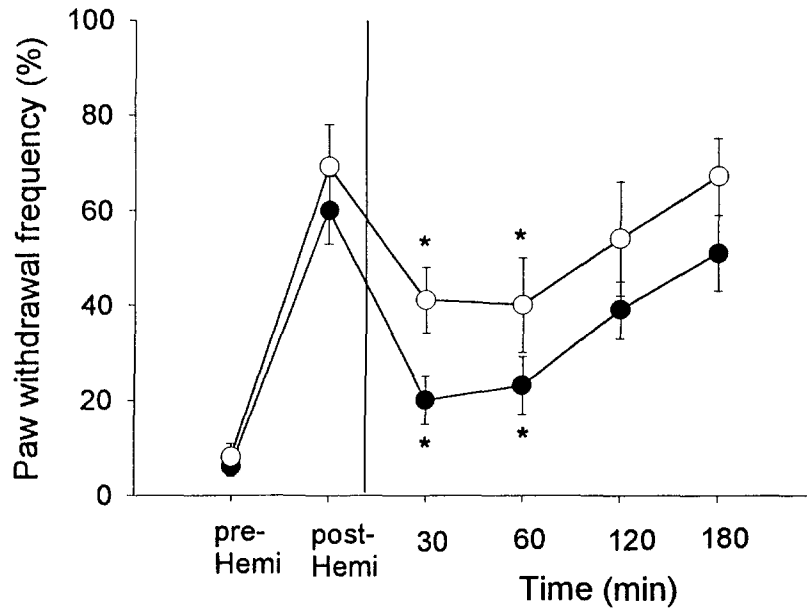


그림 3. 척수손상 후 증가된 회피반응에 수막강 내로 주입한 GABA 효현제가 미치는 영향. 수막강내로 주입한 GABA_A 수용체 아형 효현제인 muscimol(1 μ g/kg)과 GABA_B 수용체 아형 효현제인 baclofen (0.5 μ g/kg)은 모두 손상측 과 손상반대측 모두에서 척수손상 후 증가된 회피반응을 유의 있게 감소시켰다.

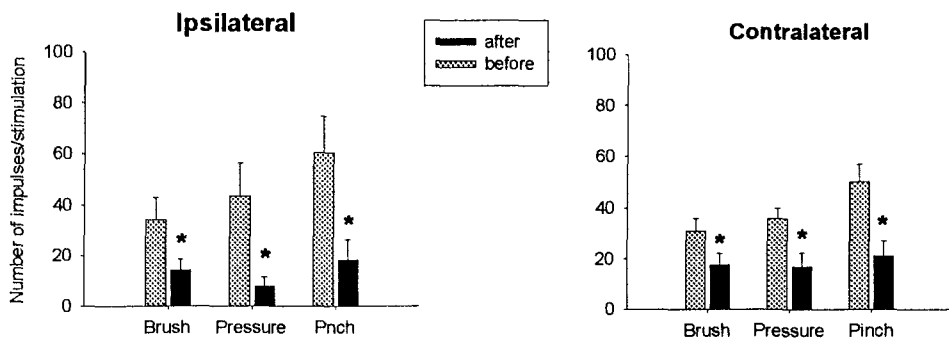
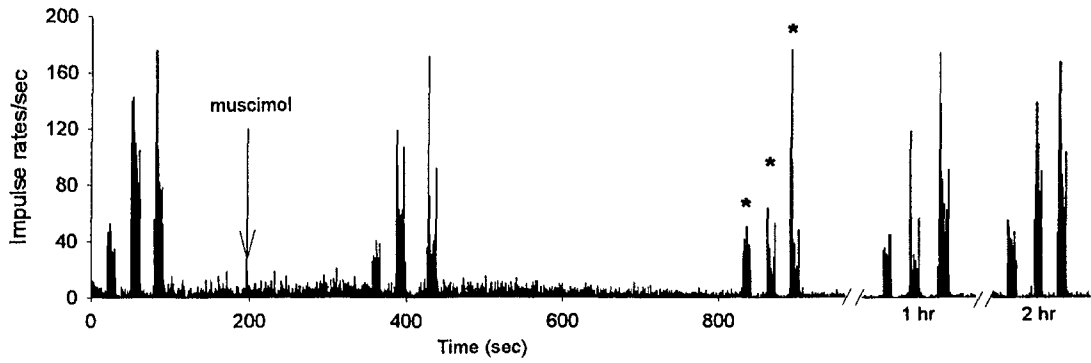


그림 4. 척수손상 후 증가된 후각신경세포 반응도에 GABA-A 효현제가 미치는 영향. 척수손상 후 WDR형 신경세포의 증가된 반응도가 신경활동 기록 부분의 척수표면에 도포해준 muscimol(1 μ g/kg)에 의하여 감소되었다. 이러한 억제효과는 손상측(ipsilateral)과 손상반대측(contralateral) 모두에서 관찰되었다.

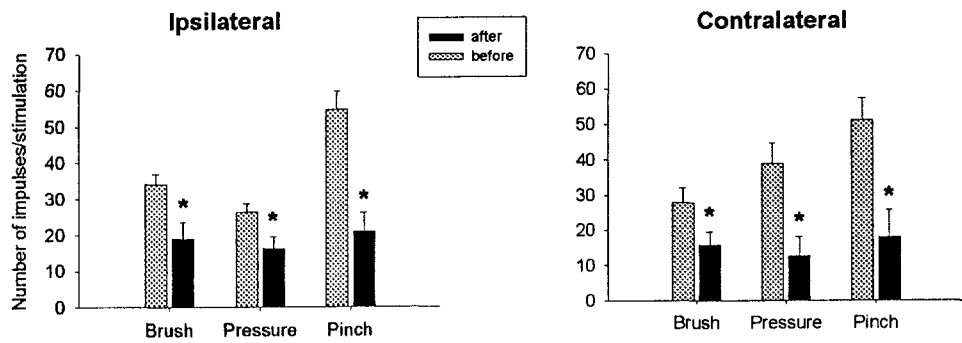
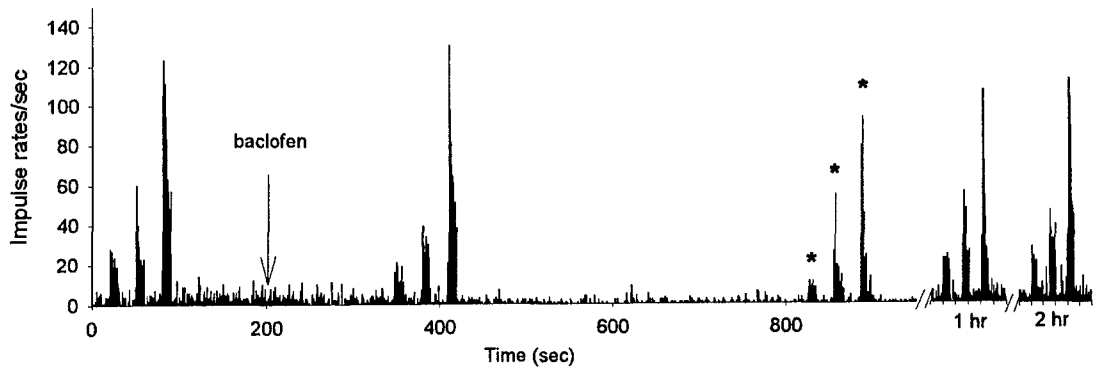


그림 5. 척수손상 후 증가된 후각신경세포 반응도에 GABA-B 효현제가 미치는 영향. 척수손상 후 WDR형 신경세포의 증가된 반응도가 신경활동 기록 부분의 척수표면에 도포해준 baclofen($0.1\mu\text{g}/\text{kg}$)에 의하여 감소되었다. 이러한 억제효과는 손상측(ipsilateral)과 손상 반대측(contralateral) 모두에서 관찰되었다.

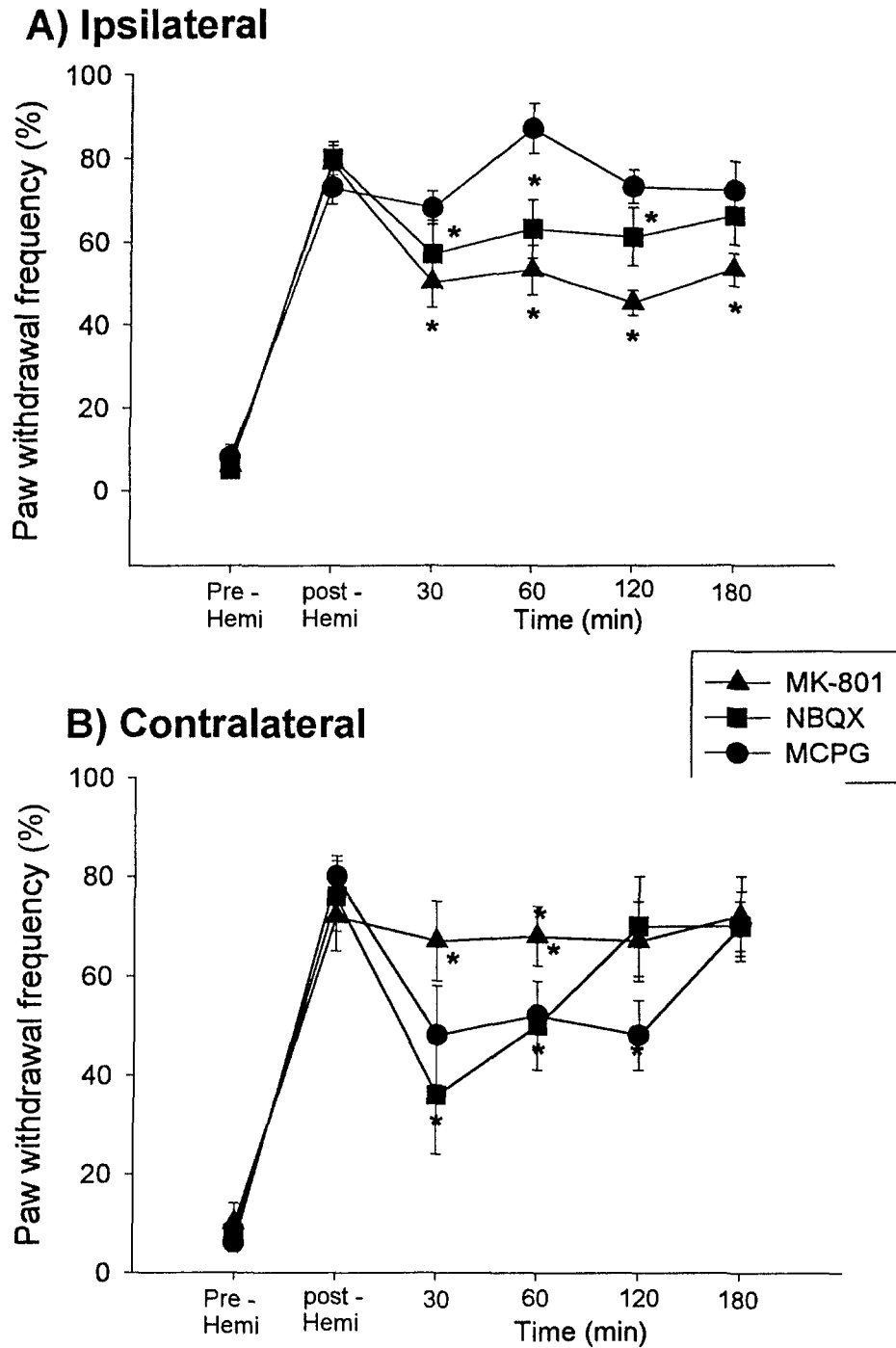


그림 6. 척수손상 후 증가된 회피반응에 수막강 내로 주입한 GABA 효현제가 미치는 영향. 수막강내로 주입한 GABA_A 수용체 아형 효현제인 muscimol(1 μ g/kg)과 GABA_B 수용체 아형 효현제인 baclofen (0.5 μ g/kg)은 모두 손상측 과 손상반대측 모두에서 척수손상 후 증가된 회피반응을 유의 있게 감소시켰다.

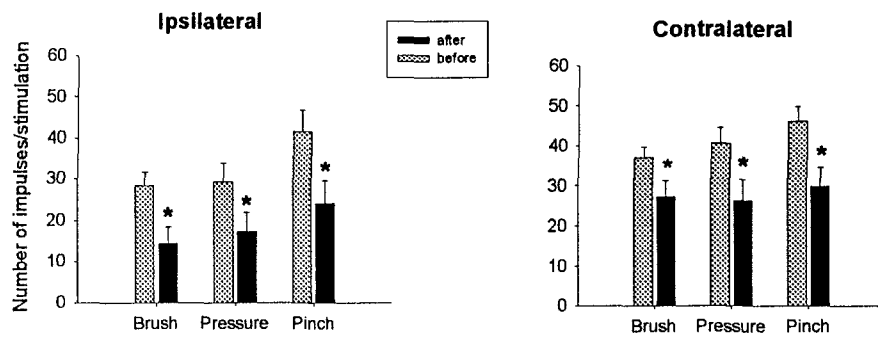
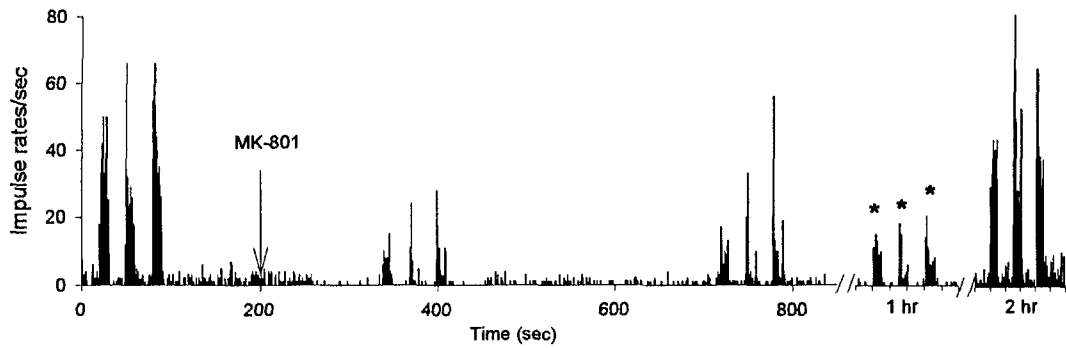


그림 7. 척수손상 후 증가된 후각신경세포 반응도에 MK-801가 미치는 영향. 척수손상 후 WDR형 신경세포의 증가된 반응도가 신경활동 기록 부분의 척수표면에 도포해준 MK-801(NMDA 수용체 길항제, 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)에 의하여 감소되었다. 이러한 억제효과는 손상측(ipsilateral)과 손상반대측(contralateral) 모두에서 관찰되었다.

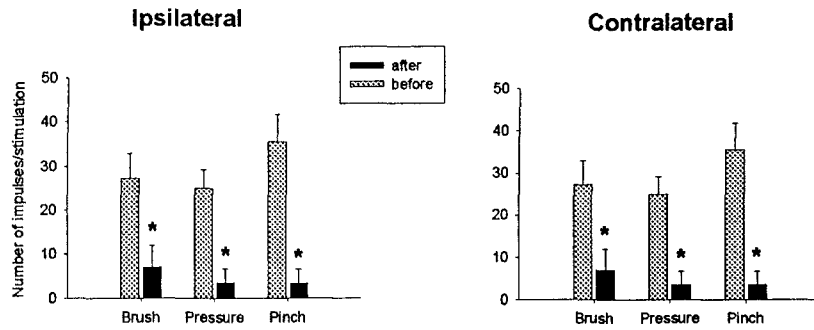
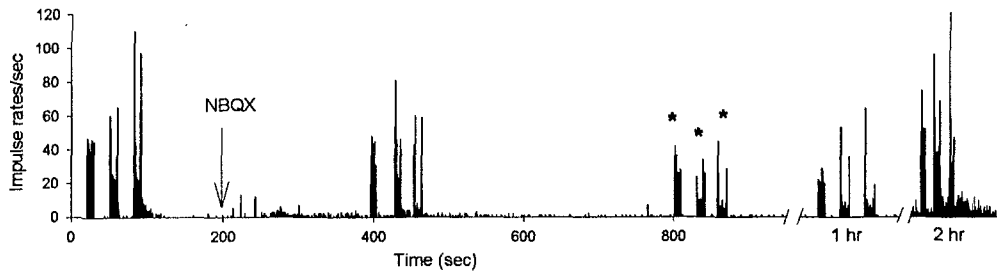


그림 8. 척수손상 후 증가된 후각신경세포 반응도에 NBQX가 미치는 영향. 척수손상 후 WDR 형 신경세포의 증가된 반응도가 신경활동 기록 부분의 척수표면에 도포해준 NBQX (non-NMDA 수용체 길항제, 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)에 의하여 감소되었다. 이러한 억제효과는 손상측(ipsilateral)과 손상반대측(contralateral) 모두에서 관찰되었다.

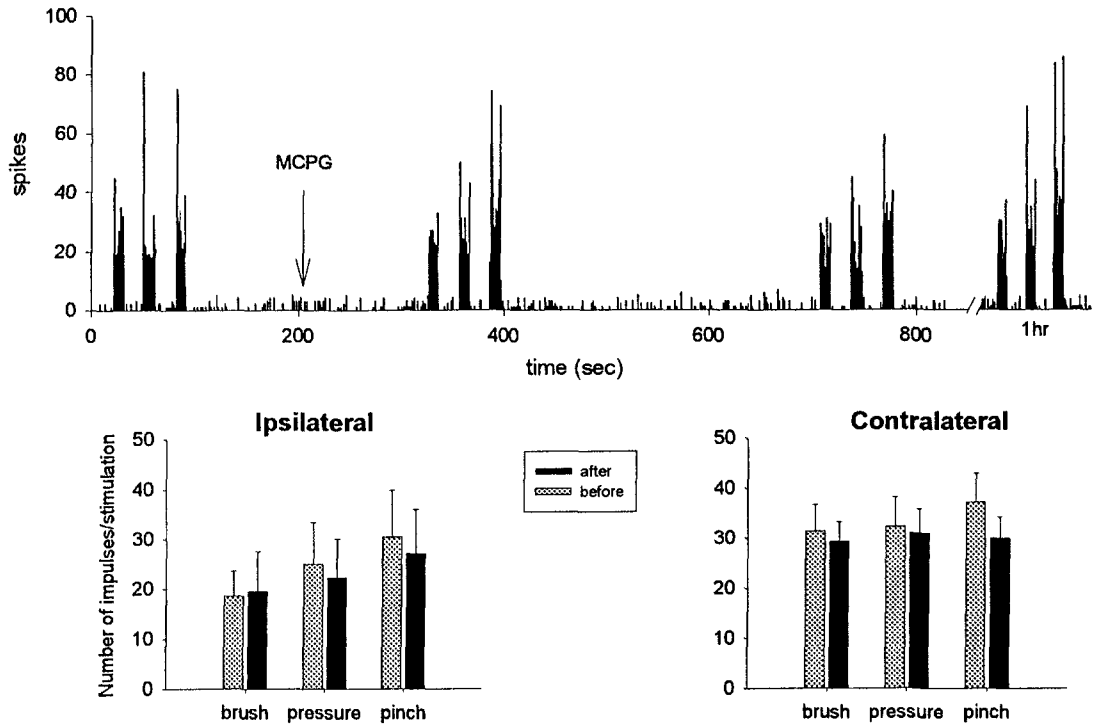


그림 9. 척수손상 후 증가된 후각신경세포 반응도에 MCPG가 미치는 영향. 척수손상 후 WDR 형 신경세포의 증가된 반응도는 신경활동 기록 부분의 척수표면에 도포해준 metabotropic glutamate 수용체의 길항제인 MCPG(100 $\mu\text{g}/\text{kg}$)에 의하여 전혀 영향을 받지 않았는데, 이는 손상측(ipsilateral)과 손상반대측(contralateral) 모두에서 동일하게 관찰되었다.

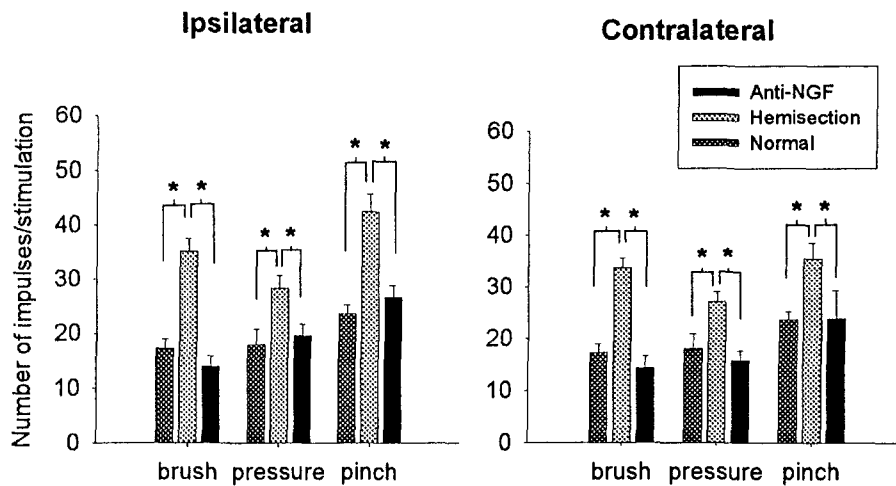
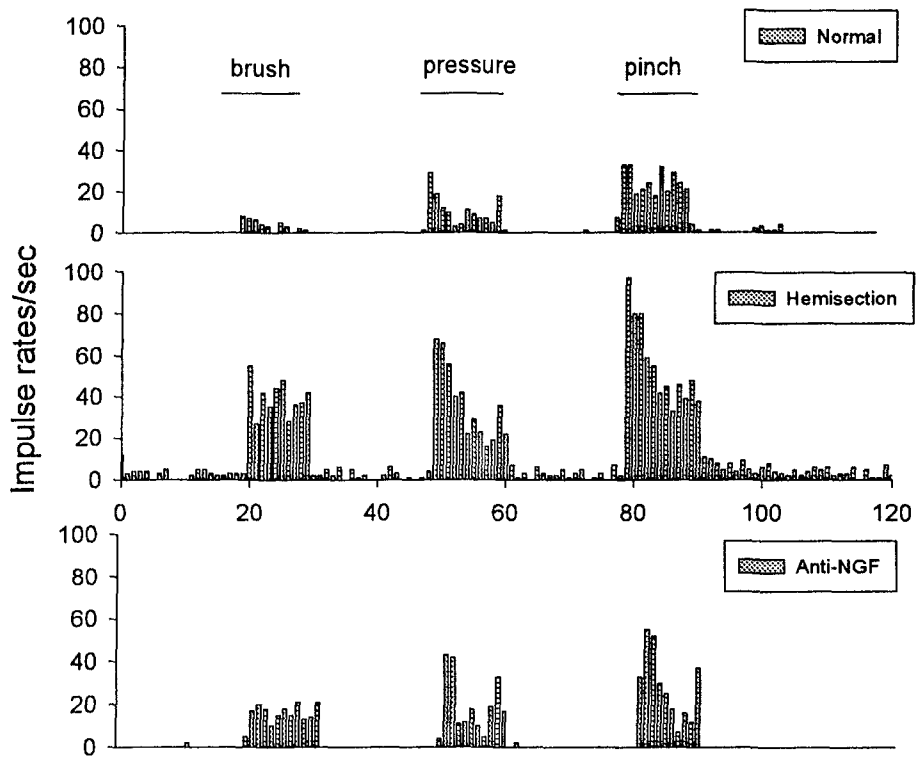
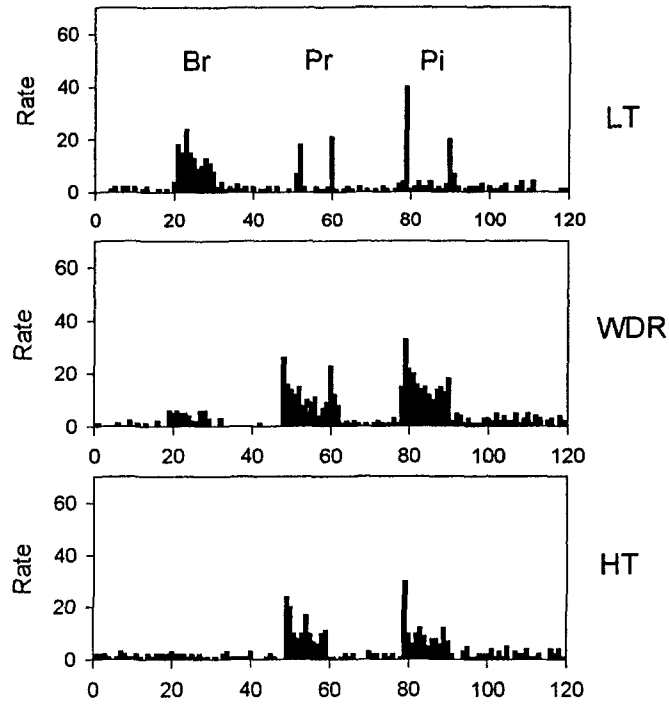


그림 10. 척수후각뉴런의 반응도에 척수손상과 척수손상 시 ant-NGF처리가 미치는 영향. WDR형 뉴런의 반응도는 척수손상 받은 쥐의 경우가 정상쥐에 비하여 세 자극에 대한 반응도 모두에서 향진되었다. 그러나 척수손상 시부터 10일 동안의 anti-NGF(i.p., 2 μ g)를 처리해 준 그룹에서의 척수후각뉴런의 반응도는 정상쥐의 그것과 거의 동일한 수준으로 반전되었음이 관찰되었다. 이러한 변화 손상측과 손상반대측 모두에서 관찰되었다.

A) VPL neurons in normal rats



B) VPL neurons in hemisected rats

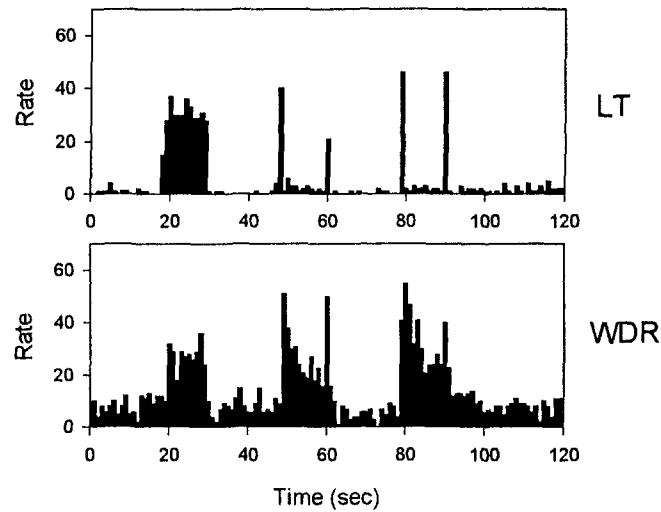


그림 11. 척수손상 쥐와 정상 쥐의 VPL 시상핵 내 신경세포 반응도간의 비교. 척수 손상 후 이질통 유사 통각행동을 보이는 동물의 VPL 시상핵 내에 존재하는 신경세포의 반응도(B)는 정상 동물의 그것에(A) 비하여 반응도가 항진되어 있었다. WDR형 신경세포는 세자극 모두에 대한 반응도가 항진되어 있었으며, LT형 신경세포는 약한 강도의 Brush자극에 대한 반응도가 현저히 항진되어 있었다.

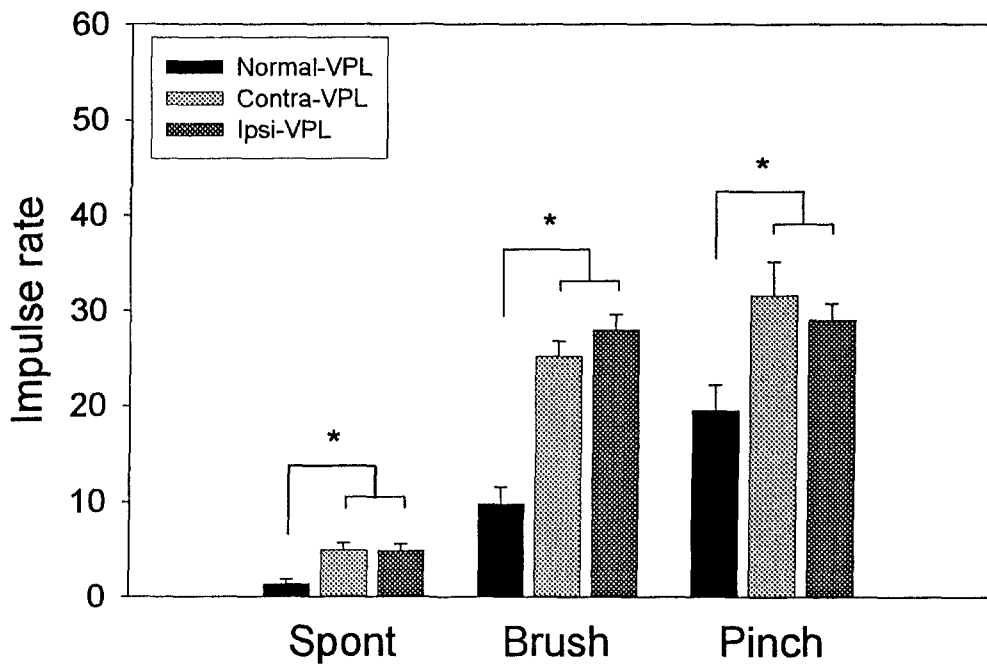


그림 12. 척수손상 쥐와 정상 쥐의 VPL 시상핵 내 WDR형 신경세포 반응도간의 비교에 관한 요약. 척수 손상 후 이질통 유사 통각행동을 보이는 동물의 VPL 시상핵 내에 존재하는 WDR형 신경세포는 정상 동물의 그것에(A) 비하여 자발적 방전이 증가되어 있었으며, 약한 강도의 자극(brush)과 강한 강도의 자극(pinch)에 의한 유발 반응이 모두 증가되어 있었다. 이러한 양상은 척수손상 측과 손상 반대측 모두에서 관찰되었다.

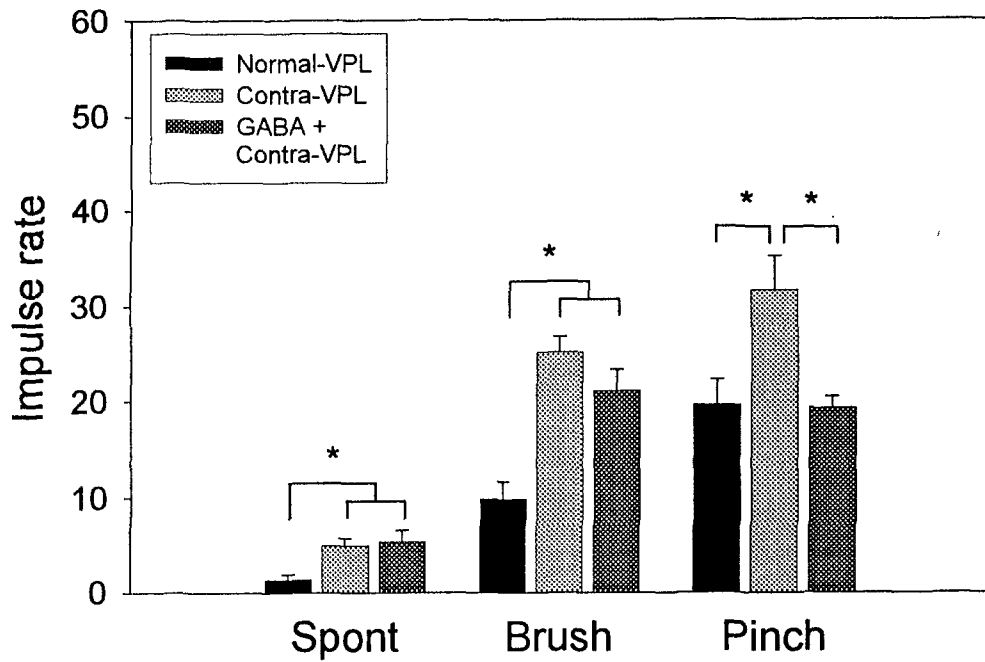


그림 13. 척수손상 후 증가된 VPL 시상핵 신경세포 반응도에 GABA가 미치는 영향. 척수손상 후 VPL 시상핵 내 WDR형 신경세포는 정상 쥐의 경우에 비하여 자발적 방전(Spont)이 항진되었고 약한강도(Brush)와 강한강도(Pinch)의 자극에 대한 반응도가 모두 항진되었다. 제3뇌실에 가해진 GABA(1 μ g/kg)는 척수손상 후 강한자극에 대한 반응도의 항진을 억제하였다.

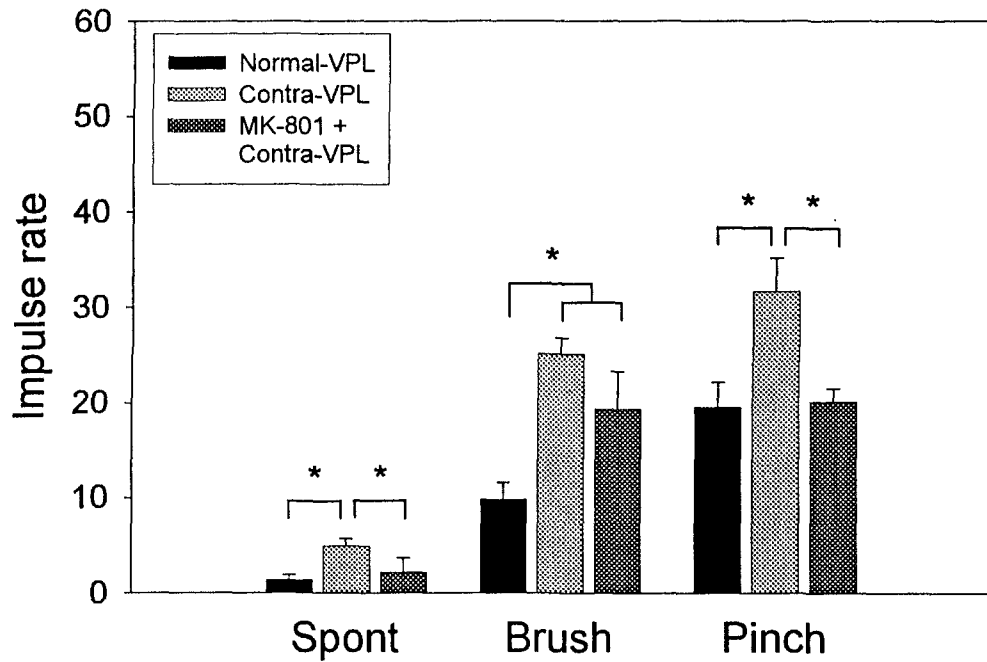


그림 14. 척수손상 후 증가된 VPL 시상핵 신경세포 반응도에 MK-801이 미치는 영향. 척수손상 후 VPL 시상핵 내 WDR형 신경세포는 정상 쥐의 경우에 비하여 자발적 방전(Spont)이 항진되었고 약한강도(Brush)와 강한강도(Pinch)의 자극에 대한 반응도가 모두 항진되었다. 제3뇌실에 가해준 NMDA 수용체 길항제인 MK-801(50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)는 척수손상 후 유도된 자발성 방전의 항진과 강한자극에 대한 반응도 항진을 억제하였다.

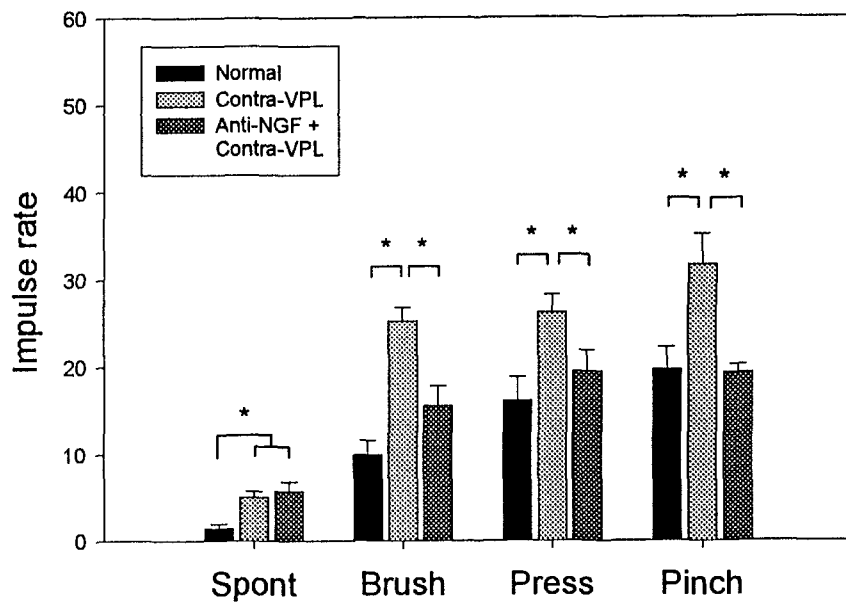


그림 15. 척수손상 후 증가된 VPL 시상핵 신경세포 반응도에 anti-NGF 처리가 미치는 영향. VPL 시상핵 내 WDR형 신경세포의 반응도는 척수손상 받은 쥐의 경우가 정상쥐에 비하여 3가지 자극에 대한 반응도 모두에서 항진되었다. 그러나 척수손상 시부터 10일 동안의 anti-NGF(i.p., 2 μ g)를 처리해 준 그룹에서의 척수후각뉴런의 반응도는 정상쥐의 그것과 거의 동일한 수준으로 반전되었다.

제 4장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

제 1 절 연도별 연구목표

1. 1차년도 연구목표

척수손상에 의한 행동양식변화와 척수후각뉴런의 반응도 특성 변화조사하고 이에 GABA성 체계의 역할을 밝힘.

2. 2차년도 연구목표

척수후각뉴런의 반응도 변화에서 흥분성아미노산 체계와 신경성장인자의 역할을 밝힘

3. 3차년도 연구목표

시상핵뉴런의 반응도 변화에서 GABA성 체계, 흥분성아미노산 체계, 그리고 신경성장인자의 역할을 밝힘.

제 2 절 평가착안점에 입각한 연구개발목표의 달성도

1. 1차년도 달성내용

가. 척수손상 후 뒷다리 모두에서 이질통 유사 통각반응이 유도됨을 관찰.

나. 척수손상 후 척수내 통각정보전달에 관여하는 WDR과 HT형 뉴런에서 촉각과 통각자극에 대한 반응도가 모두 항진됨을 관찰.

다. 이질통 유사 통각반응이 척수에 가해진 GABA 의해 억제됨을 관찰.

라. 척수후각뉴런의 반응도 항진에는 GABA-A와 GABA-B 수용체 모두가 관여함을 밝힘.

마. 척수손상에 의한 이질통 유발에는 척수 내 GABA성 체계의 손실이 한 원인임을 밝힘.
이상은 당초 개발 목표를 완전히 달성한 연구내용이다.

2. 2차년도 달성내용

가. 이질통 반응은 척수에 가해진 glutamate 수용체 억제제에 의해 억제됨을 관찰.

나. 척수후각뉴런의 항진된 반응도는 MK-801과 NBQX 모두에 의하여 억제됨을 관찰.

다. 대사성 glutamate 수용체 억제제인 MCPG는 이질통 반응과 척수후각뉴런의 항진된 반응도에 영향을 미치지 못함을 관찰.

라. 척수 내 흥분성아미노산 체계 중 특히 이온성 glutamate 수용체가 이질통 반응 유발에 관여함을 밝힘.

마. 이질통 반응은 anti-NGF 처리에 의하여 그 유발이 억제됨을 관찰.

바. Anti-NGF 처리는 척수손상에 의한 척수후각뉴런의 반응도 항진을 억제함을 관찰.

사. 이질통 유발에는 척수 내에서 뉴런의 비정상적인 성장이 관여함을 밝힘.

이상은 당초 개발 목표를 완전히 달성한 연구내용이다.

3. 3차년도 달성내용

- 가. 척수손상 후 VPL 시상핵뉴런의 반응도 역시 양쪽 모두 항진됨을 관찰.
 - 나. 시상핵뉴런의 항진된 반응은 제3뇌실에 가해진 GABA에 의하여 억제됨을 관찰.
 - 다. 이질통 유발에는 시상핵 내 GABA성 체계의 손실도 일부 관여함을 밝힘.
 - 라. 시상핵뉴런의 항진된 반응은 제3뇌실에 주입해준 glutamate 수용체 억제제(MK-801)에 의하여 억제됨을 관찰.
 - 마. 이질통 유발에는 시상핵뉴런 자체의 glutamate성 체계를 통한 과민감화가 관여함을 밝힘.
 - 바. 시상핵뉴런의 항진된 반응은 anti-NGF의 처리에 의하여 억제됨을 관찰.
 - 사. 이질통 유발에는 시상핵 내 뉴런의 비정상적인 성장 역시 관여함을 밝힘.
- 이상은 당초 개발 목표를 완전히 달성한 연구내용이다.

제 3 절 관련분야의 기술발전에의 기여도

척수손상 모델 쥐에서 촉각자극이 비정상적으로 통각자극으로 인식됨을 행동학적으로 확인하였고, 이러한 비정상적인 정보처리과정이 척수 내 후각과 시상의 VPL핵 내에서 신경세포간의 신경망 변화에 따른 반응도 항진에 의하여 이루어짐을 밝혔다. 이들 신경세포간의 신경망 변화에는 glutamate 수용체의 활성화, GABA성 중간신경의 제거, 그리고 신경섬유의 비정상적인 발아(sprouting)가 관여할 것임을 밝혔다. 이러한 결과는 임상적으로 체성감각 정보 처리과정의 이상으로 인한 만성 통증과 같은 고질적인 질병을 관리하는데 공헌할 것으로 기대된다. 예컨대, 우리가 일상생활에서 받아들이는 수많은 촉각자극이 통각을 비롯한 불유쾌한 감각으로 인식된다면 이는 육체적으로 뿐만 아니라 정신적으로도 심각한 문제를 야기 시킬 것이다. 특히 이러한 체성감각계의 이상은 외부로부터 혹은 내적 요인에 의하여 신경계 일부에 자극 내지는 충격이 가해졌을 때 발현되는데, 수많은 유해성자극 환경에 노출된 현대인으로서 체성감각계의 비정상적 발현에 직면할 가능성이 높아질 수밖에 없다. 이러한 측면에서 본 연구에서 얻은 연구 결과는 체감각정보 처리과정의 이상에 관한 유발기전에 관한 정보뿐 아니라, 이 결과에 기초하여 체감각 이상으로 인한 질병에 대한 효과적인 예방책이나 해결방법을 개발하기 위한 결정적인 정보를 제공해주는데 기여할 것으로 기대된다. 개발된 기술 자체에 의한 경제적인 효과뿐 아니라 인간의 건강상태를 증진시키고 더 나아가서는 삶의 질을 향상시켜 주어 육체적으로나 정신적으로 건강한 상태를 유지해 줌으로써 산업발전에 공헌할 수 있다는 긍정적인 효과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

본 과제를 통해 얻는 연구결과는 체성감각계의 이상에 의하여 발생하는 촉각정보처리체계의 통각정보처리체계로의 비정상적인 전환이 어떠한 기전에 의하여 이루어지는지를 보여준다. 이들 정보는 또한 다음의 목적으로도 활용될 수 있을 것이다. 즉,

1. 체성감각계를 제외한 다른 감각계(예컨대, 시각계 및 청각계 등)에서 발생할 수 있는 정보처리과정에 있어서의 이상 현상을 설명하는데 활용되고,
2. 감각계를 포함하여 신경계 전반에 걸쳐서 흔히 관찰되는 신경가소성에 관한 의문점을 해결할 수 있는 단서로써 활용되며,
3. 신경계 내에서의 정보처리과정의 이상을 정상상태로 환원시킬수 있는 방법을 개발하기 위한 기초자료로써 활용될 수 있을 것이다.

한편, 본 연구에서 동물모델을 대상으로 얻은 연구결과에 기초하여, 차후 임상실험의 가능성 타진하여 긍정적일 경우 중추성 신경손상에 따른 만성통증의 치료약제 개발에 관한 연구가 가능할 것으로 기대된다.

제 6 장 참고문헌

Coggeshall RE, Carlton SM. Receptor localization in the mammalian dorsal horn and primary afferent neurons. *Bran Research Reviews* 24: 28-66, 1997.

Dingledine R, Bogers K, Bowie D, Traynelis SF. The glutamate receptor ion channels. *Pharmacological reviews* 51: 7-61, 1999.

Fisher K, Fundytus ME, Cahill CM, Coderre TJ. Intrathecal administration of the mGluR compound, (S)-4CPG, attenuates hyperalgesia and allodynia associated with sciatic nerve constriction injury in rats. *Pain* 77: 59-66, 1998.

Hwang JH, Yaksh TL. The effect of spinal GABA receptor agonist on tactile allodynia in a surgically-induced neuropathic pain model in the rat. *Pain* 70: 15-22, 1997.

Ibuku T, Hama AT, Wang XT, Pappas GD, Sagen J. Loss of GABA-immunoreactivity in the spinal dorsal horn of rats with peripheral nerve injury and promotion of recovery by adrenal medullary grafts. *Neuroscience* 76: 845-858, 1997.

Leem JW, Choi EJ, Park ES, Pail KS. N-Methyl-D-aspartate (NMDA) and non-NMDA glutamate receptor antagonists differentially suppress dorsal horn neuron responses to mechanical stimuli in rats with peripheral nerve injury. *Neurosci Lett* 211: 37-40, 1996.

Lee YW, Yaksh TL. Analysis of drug interaction between intrathecal clonidine and MK-801 in peripheral neuropathic pain rat model. *Anesthesiology* 82: 741-748, 1995.

Magoul R, Onteniente B, Geffard M, Calas A. Anatomical distribution and ultrastructural organization of the GABAergic system in the rat spinal cord: an immunohistochemical study using anti-GABA antibodies. *Neuroscience* 20: 1001-1009, 1987.

Malcangio M, Bowery NG. GABA and its receptor in the spinal cord. *Trend in Pharmacological Science* 17: 457-462, 1996.

Patel S, Naeem S, Kesingland A, Froestl W, Capogna M, Urban L, Foz A. The effects of GABA_B agonists and gabapentin on mechanical hyperalgesia in models of neuropathic and inflammatory pain in the rat. *Pain* 90: 217-226, 2001.

Sugimoto T, Bennett GJ, Kajander KC. Transsynaptic degeneration in the superficial dorsal horn after sciatic nerve injury: effects of a chronic constriction injury, transection, and strychnine. *Pain* 42: 205-213, 1990.

Tao Y.-X., Li Y.-Q., Zhao A.-Q. Johns R. A. Synaptic relationship of the neurons containing a metabotropic glutamate receptor, mGluR5, with nociceptive primary afferent and GABAergic terminals in rat spinal superficial laminae. Brain Research 875: 138-143, 2000.

Todd AJ, Lockhead. GABA-like immunoreactivity in type 1 glomeruli of rat substantia gelatinosa. Brain Research 514: 171-174, 1990.

Todd AJ, McKenzie J. GABA-immunoreactive neurons in the dorsal horn of the rat spinal cord. Neuroscience 31: 799-806, 1989.

Valerio A, Rizzonelli P, Paterlini M, Moretto G, Knopfel T, Kuhn R, Memo M, Spano P. mGluR5 metabotropic glutamate receptor distribution in rat and human spinal cord: a developmental study. Neurosci Res 28: 49-57, 1997.

Zhang AL, Hao JX, Seiger A, Xu XJ, Wiesenfeld-Hallin Z, Grant G, Aldskogius H. Decreased GABA immunoreactivity in spinal cord dorsal horn neurons after transient spinal cord ischemia in the rat. Brain Research 656: 187-190, 1994.