

추간판 탈출증 흰 쥐 모델에서 척수후각에서의 MCP-1의 발현



The Journal Korean Society of Physical Therapy

■ 조윤우, 박해운¹, 김수정², 서정민³, 도성진, 안상호

■ 영남대학교 의과대학 재활의학교실, ¹대구가톨릭대학교 의과대학 재활의학교실, ²영남대학교 의과학연구소, ³영남대학교 의료공학연구소,

Expression of MCP-1 in Spinal Dorsal Horn in a Rat Model of Lumbar Disc Herniation

Yun-Woo Cho, MD, PhD; Hea-Woon Park, MD, PhD¹; Su-Jeong Kim, PhD²; Jeong-Min Seo³; Sung-Jin Do; Sang-Ho Ahn, MD, PhD;

Department of Rehabilitation Medicine, College of Medicine, Yeungnam University; ¹Department of Rehabilitation Medicine, School of Medicine, Catholic University of Deagu; ²Institute of Medical Science, Yeungnam University; ³Institute of Biomedical Engineering, Yeungnam University

Purpose: This study evaluates MCP-1 expression in the dorsal horn of a rat model of lumbar disc herniation by an autograft of the nucleus pulposus to the spinal nerve.

Methods: After a coccygeal nucleus pulposus graft to the left 5th lumbar spinal nerve, proximal to dorsal root ganglion, mechanical allodynia and thermal hyperalgesia were assessed 1 day before surgery, and 1, 10, 20, 30 days after surgery. The mRNA of MCP-1 in the dorsal horn was assessed by real time PCR to compare the temporal pattern of neuropathic pain of the lumbar disc herniation model.

Results: In the ipsilateral side of the lumbar disc herniation models, mechanical allodynia and thermal hyperalgesia reached a maximum at 10 days after surgery with significant difference from the control group. Pain was also provoked in the contralateral side of the lumbar disc herniation models with less intensity than the ipsilateral side. The level of MCP-1 mRNA expression in the dorsal horn reached a peak at 20 days after surgery.

Conclusion: Mechanical allodynia and thermal hyperalgesia was induced by nucleus pulposus in a rat lumbar disc herniation model, similar to a previously reported peripheral nerve injury model. The level of MCP-1 expression was higher in the dorsal horn of the ipsilateral and contralateral sides. These results suggest that MCP-1 might play a role in the maintenance of neuropathic pain.

Keywords: Macrophage chemoattractant protein-1, Autograft of nucleus pulposus, Herniated lumbar disc

논문접수일: 2009년 8월 16일

게재승인일: 2009년 9년 11일

교신저자: 안상호, spineahn@ynu.ac.kr

1. 서론

요추간판 탈출증은 방사통을 일으키는 질환 중 가장 흔한 질환의 하나로 주로 통각과민, 이질통 등의 증상을 일으키며 그 외 근력 및 감각의 약화 소견을 종종 나타낸다. 요추간판 탈출로 인한 통증은 주위의 요수 신경근 자극에 의한 것이며, 이로 인

한 신경근 손상의 증거는 근전도 검사, 신경근의 조직학적 검사 등을 통해 잘 나타난다.¹ 요추간판 탈출로 인한 하지 방사통의 직접적 원인으로 과거에는 주로 기계적 압박에 의한 통증으로 사료되었으나, 여전히 남아 있는 탈출에도 불구하고 통증이 감소하거나, 탈출의 정도가 작은 경우에서 큰 경우보다 통증이 더 심한 경우 등을 통해서 화학적 자극에 대한 의구심이 생겨났고,

이 후 화학적 자극에 의한 통증에 관한 많은 연구가 보고되었다.^{2,3}

화학적 자극으로 인한 통증은 주로 탈출된 수핵과 신경근과의 염증성 반응 및 면역반응에 의해 설명되고 있으며, tumor necrosis factor α (TNF α), 인터루킨-1, 6, 8, cyclooxygenase-2 (COX-2) 등의 염증성 매개물질들이 관여하고 있다.^{4,6} 신경병증성 통증의 실험적 모델로 주로 말초신경 손상 모델이 많으며, 만성 협착 손상(chronic constriction injury) 모델 및 척수신경 결찰(spinal nerve ligation) 모델, 좌골 신경 절단(sciatic nerve transection) 모델 등이 있고, 대체로 손상된 말초신경 근위부의 후근신경절 및 척수후각에서 미세아교세포, 별아교세포가 발견되며, 여기서 TNF α , 인터루킨-1 등의 염증성 사이토카인과 fractalkine, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) 등의 케모카인, 프로스타글란딘E-2, brain derived neurotrophic factor (BDNF) 등의 물질들이 분비되어 급성 및 만성 통증이 유지된다고 보고되었다.^{4,7,8} 최근엔 임상에서 보게되는 추간판 탈출 환자와 비교적 유사하게 척수신경근에 수핵을 이식하는 동물 모델을 이용하여 방사통의 기전을 연구하고 있으며, 이 모델에서도 사이토카인과 케모카인이 관여하는 것으로 알려지고 있다.

이 중 케모카인은 주로 손상된 조직으로 대식세포의 이동을 유도하여 염증반응에 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다.^{9,10} 이들은 C, C-C, C-X-C, 그리고 CX₃C, 모두 4그룹으로 분류된다. 이들은 주로 서로 다른 세포에 영향을 미치며, C 케모카인은 주로 CD8+ T-림프구에, C-C 케모카인은 단핵세포 및 대식세포, T 림프구의 이동에 영향을 미치고 중성구에는 관여하지 않는다. C-X-C 케모카인은 중성구의 이동을 증진시키나, 단핵세포엔 영향이 없으며, CX₃C 케모카인은 백혈구의 이동 및 부착에 영향을 준다.¹¹ 통증과 관련된 케모카인의 역할에 있어, 만성 신경병증성 통증 모델에서 케모카인이 증가하여 세포막의 탈분극화를 유발하고, 활동 전위를 자극하며, 세포막의 여러 통로를 통해 통증수용체들을 민감화하는 것으로 보고된다.¹² 이 중 Macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α)와 더불어 MCP-1은 C-C 케모카인에 속하며, 여러 질병에서 염증성 반응 및 통증과 관련하여 보고되었다. MCP-1은 척수신경 결찰(spinal nerve ligation, SNL)에 의한 신경병증성 모델에서 척수후각에서 발견되어 통증에 영향을 미친다고 보고되었다.¹³ 추간판과 관련된 MCP-1에 대한 보고로, 탈출된 수핵의 재흡수(resorption) 과정에 MCP-1이 대식세포를 동원하여 탐식작용을 돕는 것으로 알려지며,¹⁴ 쥐의 복막에 자가 이식된 미추간판에서 MCP-1이 생성된다고 보고되었다.¹⁵ 특히 발병 초기에 TNF α , IL-1 β 등이 추간판 세포의 MCP-1을 생성을 자극한다고 하였다.¹⁶ 그리고 탈출된 추간판 세포 배양 시 탈출이 심할

수록 더 많은 양의 MCP-1이 발견되어 염증성 반응과 관계가 있음이 보고되었다.¹⁷

하지만, 흰 쥐의 추간판 탈출 모델에서 척수후각에서의 MCP-1의 발견을 본 경우는 보고되지 않았다. 따라서, 본 연구에서는 흰 쥐의 추간판 탈출 모델을 만든 후 신경병증성 통증의 양상을 보고, 이와 관련하여 척수 후각에서의 MCP-1의 발견을 보고자 하였다. 또한 형태학적으로 MCP-1이 척수의 아교세포에서 발견되는지를 확인하고자 하였다.

II. 연구방법

1. 쥐 요추간판 탈출 모델

66마리의 220-230g의 Sprague-Dawley 쥐를 사용하였고, 모든 시술은 미국국립보건원의 실험동물 관리 및 사용 지침에 따랐다. 모든 쥐를 Zoletil 50 (Virbac Laboratories, 프랑스, 50mg/kg)을 복강내 주사로 마취하였고 요추의 등쪽 정중부를 따라 피부를 절개한 후 제4 요추에서 제1 요추의 가시돌기를 따라 뒷갈래근을 분리하였다. 쥐의 제2 요추 가시돌기와 제1 천추 가시돌기에 척추고정 장치를 장착하였다. 척추후궁절제술을 시행하여 좌측 제5 요수 신경근 및 후근신경절을 노출시켰다. 실험군에서는 각각의 쥐 꼬리부의 제2-3 미추간판에서 수핵을 채취한 후 후근신경절 근위부의 제5 요수 신경근 위에 자가 수핵 이식을 시행하였고, 대조군은 이식을 시행하지 않았다.

2. 행동학적 검사

쥐들의 분류 및 실험일정을 알지 못하는 자가 모든 행동학적 검사를 시행하였다. 모든 쥐에서 술전 1일, 10일, 20일, 30일째 양측 뒷다리 족저부에서 기계적 이질통 및 열성 통각과민에 대한 행동학적 검사를 시행하였다(Figure 1). 열성 통각과민은 열에 대한 족저부의 회피반응을 측정하여 결정하였다. 유리판 위에 놓은 투명 플라스틱 상자 안에 쥐를 넣은 후 30분간 환경에 적응하도록 둔 뒤 갑작스런 회피반응을 보일 때까지 방사열원부(Model 336 combination unit, IITC/life Science Instruments, Woolland Hill, CA, 미국)에 족저부를 쬐었다. 각각의 족저부를 좌우를 번갈아 5회씩 검사한 후 각각의 회피 반응의 잠시를 기록하였다. 족저부 검사는 최소 3분의 간격을 두었고, 족저부가 완전히 바닥에 놓인 후에야 검사를 시행하였다. 회피 반응 잠시의 평균치를 기록하되, 잠시 최고치와 최저치는 제외하였다.¹⁸ 기계적 이질통은 족저부에 다양한 강도의 필라멘트(von Frey filaments)로 자극하였을 때 회피반응을 측정하여 기록하였다. 구멍의 가로와 세로 길이가 2mm인 편평한 철망 위에 격자에 의해 분리된 투명 플라스틱 상자를 올리고 각 구획

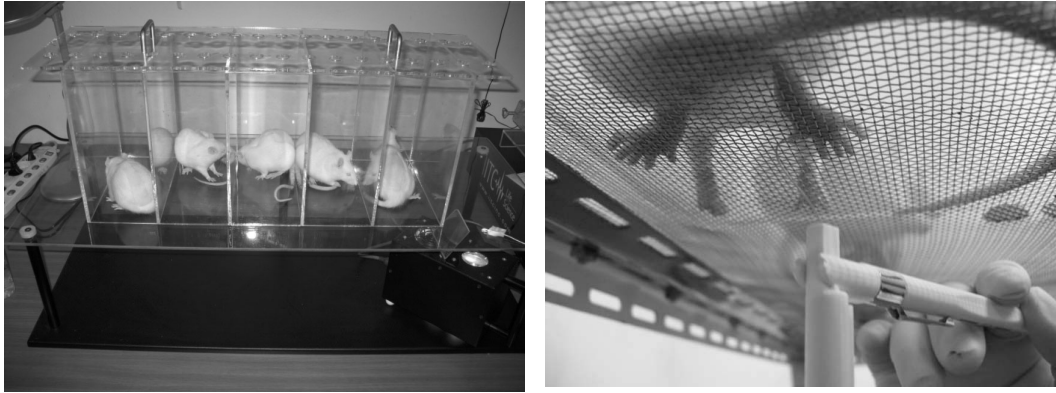


Figure 1. Thermal hyperalgesia was determined by measuring hindpaw thermal withdrawal response using a radiant heat (A). Mechanical allodynia was tested by measuring hindpaw mechanical withdrawal response using von Frey filaments (B).

에 쥐를 1마리씩 넣고 검사 전 30분간 환경에 적응시켰다. 0.1g의 탐색자를 시작으로 하여 회피반응 여부에 따라 순차적으로 강도를 높여 자극하되 제5 요수신경근 지배의 족저부에 filaments로 10회 자극하여 50% 이상 회피반응을 보였을 때를 역치로 계산하였다. 최고 자극강도는 쥐 몸무게의 10%가 넘지 않도록 하였다.¹⁹

3. Real time PCR

행동학적 검사 후 real time PCR 및 면역조직화학을 시행하였다 (각 시간대별로 n=10, real time PCR: n=9, 면역조직화학법: n=4). 각 시간대 별로 제5 요수 조직을 분리하여 액체질소에 얼린 후 RNA 추출 전까지 -86°C에 보관하였다. 각각의 샘플에 TRIzol® (Invitrogen, Carlsbad, CA, 미국)을 처리하여 총 RNA를 분리한 후 흡광기로 적합한 순전도를 검사하였다. 총 RNA 1μg을 cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, 미국)를 이용하여 25°C에서 10분, 37°C에서 120분 반응시켜 cDNA를 합성하였다. 7500 Real Time PCR Systems (AB Applied Biosystems, 미국)을 이용하여 PCR을 수행하였다. Profinder software (Universal Probe Library (UPL), Roche, 스위스)를 이용하여 시발체(primer)와 TaqMan 탐침을 설계하였다. 사용된 시발체는 다음과 같다. MCP-1: sense 시발체 '5'-CAGAAACCAGCCAACTCTCA-3'와 항 sense 시발체 '5'-GTGGGGCATTAACTGCATCT-3'. HPRT (내부 참조 대조군): sense 시발체 '5'-GGTCCATTCCTATGACTGTAGATTTT-3'와 항 sense 시발체 '5'-CAATCAAGACTTCTTTCCAGTT-3'. Mastermix는 250nM의 UPL탐침, 700nM의 각 시발체(sense 및 항sense), 2X TaqMan® Geneexpression Master Mix (AB Applied Biosystems, 미국) 10 μL, cDNA 2μL로 구성되었다. PCR 조건은 50°C에서 2

분, 95°C에서 10분, 95°C에서 15초, 60°C에서 1분간 50회 반복으로 실시하였다.

4. 면역조직화학법

술 후 7일, 20일의 쥐를 희생하여 MCP-1 및 수용체의 발현을 보았다. Zoletil 50 (Virbac Laboratories, 프랑스, 60mg/kg) 복강 내 주사로 쥐를 깊게 마취한 후, 식염수로 희석한 헤파린 (헤파린 : 식염수 = 1:50)을 심장에 주입하고 식염수로 관류시키고, 4% 중성완충 포르말린 고정액(0.1 M PBS를 용매로 이용, pH 7.4)으로 관류고정 하였다. 제5 요수 부위를 채취하여 4% 포르말린 고정액에 2시간 동안 고정 후, 30% sucrose 용액에 담귀 조직 내의 수분을 제거하였다. 척수를 10μm 두께로 절편하여 냉고정액에 보관하였다. 각각의 절편은 10% 정상 당나귀 혈청(normal donkey serum NDS, Jackson Immunolabs, West Grove, PA, 미국)에 10분간 block하였고, 일차항체 혼합액에 하룻밤 동안 처리하였다. 척수 후각에서의 미세아교세포 및 별아교세포에서의 MCP-1 발현 확인을 위해, 토끼 항MCP-1항체(Novus 1:100, Biologicals, 미국)와 토끼 항Iba1 (1:1000, Wako, Osaka, 일본) 혹은 토끼 항 glial fibrillar acidic protein (GFAP, 1:1000, DAKO, Gloustrup, 덴마크)을 혼합하였고, 이후 각각 일차항체 혼합액에 처리된 각 절편을 세척 후 2% 당나귀혈청에 10분간 처리하였고, Alexa 488 혹은 Cy3가 접합된 이차 항체들을 조합하여 3시간 동안 완충액에 처리 후 세척하였다. 각 절편들을 봉입과정을 거친 후 CCD 카메라(F-View II, Soft imaging system, 독일)가 부착된 광학 현미경 (Leica DMR)으로 관찰을 하였다.

5. 자료 분석

계측한 모든 자료는 SPSS/PC 15.0으로 분석한 후 평균 ± 표준오차로 나타내었다. 행동학적 검사의 기본 측정치는 비모수 검정인 Wilcoxon 부호순위검정과 Mann Whitney U 검정을 시행하였다. 각 경우에 있어서 p 값이 0.05보다 미만인 경우에 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

III. 결과

1. 행동학적 검사

1) 열성 통각과민

실험군 및 대조군 모두에서 환측(좌측) 및 건측(우측)의 열성 회피반응 잠시를 비교하였다. 실험군에서는 환측과 건측 모두 10일째 회피반응 잠시가 가장 많이 감소하였다. 이 후 서서히 회피반응 잠시가 서서히 증가하는 양상을 보였다. 환측에서의 회피반응 잠시 감소는 10일, 20일째 유의하였다($p < 0.05$) (Figure 2). 위 결과는 실험군 쥐들에서 대조군에 비하여 열성 통각과민이 발생한 증거를 나타낸다.

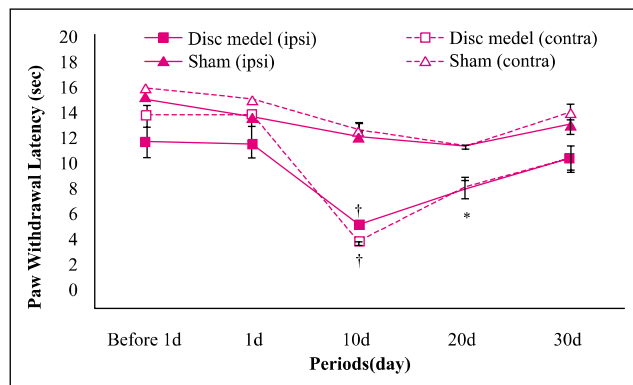


Figure 2. Comparison of thermal hyperalgesia. Hindpaw withdrawal latencies in response to a radiant heat of the experimental and sham group. The latency of experimental group was maximally decreased at 10 days after surgery and increased slowly to 30 days after surgery. On ipsilateral side of the experimental group, the latencies of 10 days and 20 days after surgery were decreased significantly compared to the sham group. And on contralateral side of the experimental group, the latency of 10 days after surgery was decreased significantly compared to the sham group. ipsi: ipsilateral, contra: contralateral, d: day(s). * $p < 0.05$, † $p < 0.01$

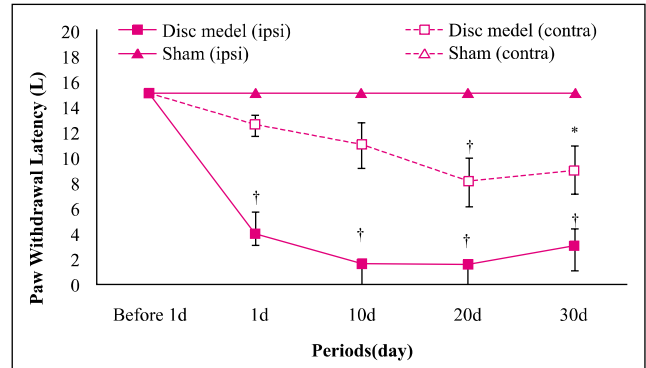


Figure 3. Comparison of mechanical allodynia. Hindpaw withdrawal thresholds in response to a von Frey filament of the experimental and sham group. The latency on ipsilateral side of experimental group was decreased from 1 day after surgery and maximally decreased at 10 days after surgery and maintained to 30 days after surgery. On ipsilateral side of the experimental group, the latencies of all days after surgery were decreased significantly compared to the sham group. And on contralateral side of the experimental group, the latencies of 20 days and 30 days after surgery were decreased significantly compared to the sham group. ipsi: ipsilateral, contra: contralateral, d: day(s). * $p < 0.05$, † $p < 0.01$

2) 기계적 이질통

실험군 및 대조군 모두에서 filament를 이용하여 기계적 이질통의 역치를 비교하였다. 실험군의 환측에서는 대조군에 비하여 술 후 첫 날부터 급격한 역치의 감소를 보였고 이는 30일 관찰기간 내내 지속되었으며 모든 일에서 유의하였다($p < 0.05$) (Figure 3). 실험군의 건측에서도 술 후 20일째 가장 심한 역치 감소를 보였고, 이 후 역치값은 서서히 증가하였으며, 술 후 20일, 30일째 대조군에 비해 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 위 결과는 실험군 쥐들에서 대조군에 비하여 기계적 이질통이 발생한 증거를 나타내며, 특히 실험군의 환측에서 건측에 비해 더 심한 이질통이 나타났다.

2. 척수후각에서의 MCP-1 mRNA 발현

실험군에서 대조군에 비해 MCP-1의 mRNA 발현이 증가되었다. 실험군의 환측 및 건측 모두에서 20일째 발현이 증가한 후 서서히 감소하였다($p < 0.05$) (Figure 4).

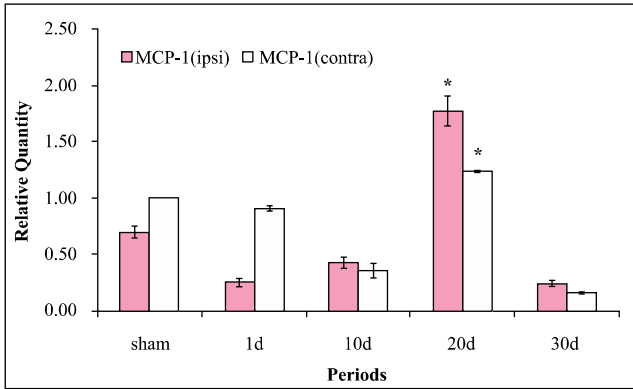


Figure 4. MCP-1 mRNA expression of in ipsilateral and contralateral dorsal horn in the experimental group and sham group. The mRNA was maximally expressed at 20 days after surgery. The mRNA of both side on 20 days after surgery of experimental group were higher than sham group significantly, respectively. MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1, ipsi: ipsilateral, contra: contralateral, d: day(s). * $p < 0.05$

3. 면역조직화학법

술 후 7일, 20일의 흰 쥐 척수의 후각을 제외한 전 지역에서 MCP-1이 발견되었다. 하지만, 미세아교세포 혹은 별아교세포에서 MCP-1이 발견되진 않았다(Figure 5).

IV. 고찰

본 연구에서는 쥐의 제5 요수 신경근에 자가 수핵 이식을 통하여 열성 통각과민 및 기계적 이질통을 일으켰고, 척수후각에서 MCP-1의 mRNA가 발견됨을 관찰하였다. 특히 실험군에서는 술 후 20일에 가장 많이 발견되었고, 이후 감소하는 양상을 보였다. 면역조직화학 검사에서는 척수의 후각을 제외한 나머지 부분에서만 MCP-1이 관찰되었고, 미세아교세포 및 별아교세포에서 MCP-1이 관찰되진 않았다.

Sasaki 등은 흰 쥐의 자가 수핵 이식 모델에서 기계적 이질통이 장기간 지속하였다고 보고한 바 있다.²⁰ 본 연구에서는 흰

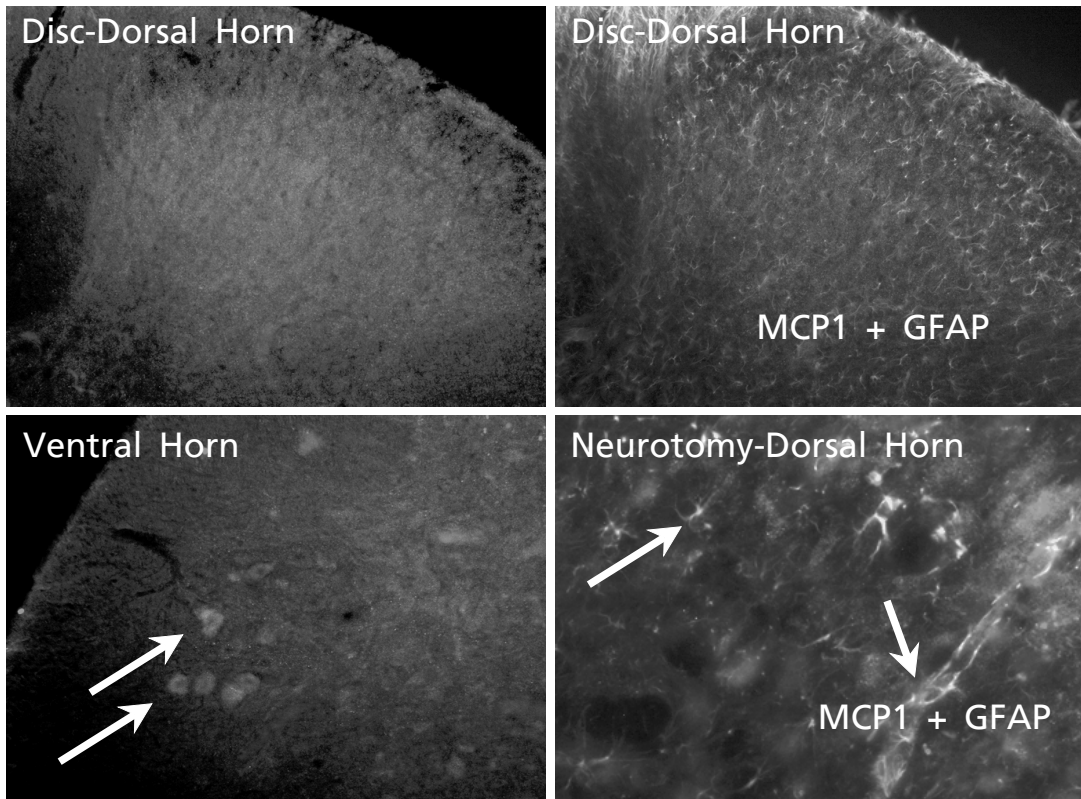


Figure 5. Immunohistochemistry of GFAP and MCP-1 in the ipsilateral L5 spinal dorsal and ventral horn 20 days after graft. MCP-1 immunoreaction was scattered in spinal gray mater except superficial laminae of dorsal horn (yellow arrow). There was no MCP-1/GFAP positive astrocyte. But, neurotomy model showed MCP-1/GFAP positive astrocytes in dorsal horn (white arrow). MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1, GFAP: glial fibrillary acidic protein.

쥐 자가 수핵 이식 후 발생한 신경병증성 통증 모델을 30일 동안 관찰한 결과, 기계적 이질통은 술 후 첫 날부터 발생 후 10일, 20일째 심했다가 30일간의 실험 동안 유지되는 동안 서서히 감소하는 양상이었다. 열성 통각과민의 시작은 기계적 이질통에 비해 늦었으며, 10일째 가장 심해졌고, 이 후 30일까지 서서히 감소하였다. 그리고 건축에서도 기계적 이질통 및 열성 통각과민이 함께 발생하였으나 덜 심한 양상을 보였다. 이는 이전의 신경병증성 모델에서도 유사한 양상으로 보고되었고,²¹ 그 기전으로 양측 척수후각간에 신경 연결 통로가 있을 것으로 추정된다.²² 본 연구에서는 기계적 압박 없이 수핵 이식만으로 통증 유발 모델을 만들었고, 이는 기계적 압박 없이도 염증반응에 의해 통증이 발생한다는 기존의 결과와 일치하는 소견을 보였다.²⁰

신경병증성 통증에 대한 MCP-1의 관련성에 대한 연구 결과, CCR2의 유전적 결함을 가진 쥐의 말초신경 손상 후 기계적 이질통이 발현하지 않았고, 통증 행동에 변화가 없었던 반면, 아교세포에서 MCP-1의 과생성을 유도하는 유전자이식 쥐에서는 통각반응이 증가되었다고 보고되었다.²³ 제5 요수신경 결찰 모델과 좌골신경 축삭절단(axotomy) 모델에서는, 후근신경절과 척수후각에서 MCP-1이 발현되고, 후근신경절 신경세포에서 합성된 MCP-1이 척수로 전달되어 척수후각에서 반응하여 신경병증성 통증에 관여할 수 있다.²⁴ 또한 좌골신경 만성 협착 손상 모델의 신경병증성 통증에서 MCP-1이 후근신경절, 척수전각 및 후각에서 발현되며, 척수에서는 미세아교세포 및 별아교세포를 활성화할 수 있다.²⁵ 본 연구에서는 열성 통각과민과 기계적 이질통의 최고치가 지난 시점인 수핵 이식 20일 후 척수 후각에서 MCP-1 mRNA의 발현이 가장 높았고, 면역조직화학 검사 상 수핵 이식 20일 후 척수 후각의 표면판(superficial laminae)을 제외한 전 지역에 산재되어 발현되었다. Jeon 등의 제 5요수신경 결찰 모델에서는 MCP-1의 최대치 발현 시기가 척수내의 위치에 따라 차이가 있었고, 표면판에 비해 심부판(deeper laminae)에서의 발현이 1주 후에 나타났으며,²⁴ 이는 기계적 이질통이 최고치에 달한 시기 이후이므로 MCP-1의 발현이 신경병증성 통증의 유지와 관련된 것으로 추정하였다. 본 연구에서 통증이 최고치를 지나 20일째 심부판에서 MCP-1이 염색된 것은 MCP-1이 통증의 유발보다는 유지와 관련된 소견으로 추정된다. Lysophosphatidylcholine (LPC)를 이용한 국소적 탈수초화 모델에서 14일째 후근신경절 신경세포에서 MCP-1이 증가하고, 이에 반응하여 14, 28일째 $[Ca^{2+}]_i$ 가 증가하여 신경병증성 통증이 지속한다는 보고²⁶도 MCP-1이 신경병증성 통증의 유지에 관여한다는 사실을 뒷받침한다.

본 연구에서 아교세포에서 MCP-1의 발현이 관찰되지 않은 점은 정확한 이유는 알 수 없으나, 수핵 이식으로 인한 신경근

손상 모델은 수핵과 닿은 신경근의 부분적 화학적 손상이 유발되는 것이므로 요수신경 결찰 혹은 좌골신경 만성 협착 손상 모델, 축삭 절단 모델에 비해 신경근의 손상 정도가 적기 때문일 것으로 추정된다. 본 연구에서 수핵 손상 모델과 비교하기 위해 참고로 시행한 축삭 절단 모델에서 MCP-1과 별아교세포의 표지자인 glial fibrillary acidic protein (GFAP)가 동시에 발현되는 양상을 관찰할 수 있었다(Figure 5).

본 연구의 제한점으로는 후근신경절에서 발현되는 MCP-1의 변화와 척수에서 발현되는 MCP-1의 변화를 연관시켜 관찰하지 못한 점과 MCP-1을 차단하여 신경병증성 통증이 감소함을 확인하지 못한 것으로 생각되며, 향후 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결론

자가 수핵 이식을 이용한 흰 쥐의 신경병증성 통증 모델에서 말초신경 손상에 의한 기존 연구에서와 같이 신경병증성 통증이 나타났고, 열성 통각과민과 기계적 이질통의 최고치가 지난 시점에서 척수 후각에서 MCP-1의 발현이 증가한 것으로 보아 MCP-1은 자가 수핵 이식 모델에서 신경병증성 통증의 유지에 관계할 것으로 추정되며, 향후 신경병증성 통증의 목표 치료 물질의 하나가 될 수 있을 것으로 사료된다.

Author Contributions

Research design: Cho YW, Kim SJ

Acquisition of data: Kim SJ, Seo JM, Do SJ

Analysis and interpretation of data: Cho YW, Kim SJ, Park HW, Ahn SH

Drafting of the manuscript: Cho YW

Administrative, technical, and material support: Kim SJ

Research supervision: Ahn SH

Acknowledgements

이 논문(저서)은 2007년도 정부재원(교육인적자원부 학술연구 조성사업비)으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 연구되었으며(KRF-2007-331-E00175), 그리고 이 논문은 2007년도 재단법인 천마의학연구재단 지원에 의하여 이루어 졌음.

참고문헌

1. Lee SJ, Han TR, Hyun JK et al. Electromyographic findings in nucleus pulposus-induced radiculopathy in the rat. Spine

- (Phila Pa 1976). 2006;31(18):2053-8.
2. Boumphrey FR, Bell GR, Modic M et al. Computed tomography scanning after chymopapain injection for herniated nucleus pulposus. A prospective study. *Clin Orthop Relat Res.* 1987;(219):120-3.
 3. Bush K, Cowan N, Katz DE et al. The natural history of sciatica associated with disc pathology. A prospective study with clinical and independent radiologic follow-up. *Spine (Phila Pa 1976).* 1992;17(10): 1205-12.
 4. Ahn SH, Cho YW, Ahn MW et al. mRNA expression of cytokines and chemokines in herniated lumbar intervertebral discs. *Spine (Phila Pa 1976).* 2002;27(9):911-7.
 5. Miyamoto H, Saura R, Harada T et al. The role of cyclooxygenase-2 and inflammatory cytokines in pain induction of herniated lumbar intervertebral disc. *Kobe J Med Sci.* 2000;46(1-2):13-28.
 6. Olmarker K, Larsson K. Tumor necrosis factor alpha and nucleus-pulposus-induced nerve root injury. *Spine (Phila Pa 1976).* 1998;23(23):2538-44.
 7. Cuellar JM, Montesano PX, Carstens E. Role of TNF-alpha in sensitization of nociceptive dorsal horn neurons induced by application of nucleus pulposus to L5 dorsal root ganglion in rats. *Pain.* 2004;110(3):578-87.
 8. Kallakuri S, Takebayashi T, Ozaktay AC et al. The effects of epidural application of allografted nucleus pulposus in rats on cytokine expression, limb withdrawal and nerve root discharge. *Eur Spine J.* 2005;14(10):956-64.
 9. Luster AD. Chemokines—chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med.* 1998;338(7):436-45.
 10. Oppenheim JJ, Zachariae CO, Mukaida N et al. Properties of the novel proinflammatory supergene "intercrine" cytokine family. *Annu Rev Immunol.* 1991;9:617-48.
 11. Zou LP, Pelidou SH, Abbas N et al. Dynamics of production of MIP-1alpha, MCP-1 and MIP-2 and potential role of neutralization of these chemokines in the regulation of immune responses during experimental autoimmune neuritis in Lewis rats. *J Neuroimmunol.* 1999;98(2):168-75.
 12. White FA, Wilson NM. Chemokines as pain mediators and modulators. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2008;21(5):80-5.
 13. Gao YJ, Zhang L, Samad OA et al. JNK-induced MCP-1 production in spinal cord astrocytes contributes to central sensitization and neuropathic pain. *J Neurosci.* 2009;29(13):4096-108.
 14. Yoshida M, Nakamura T, Sei A et al. Intervertebral disc cells produce tumor necrosis factor alpha, interleukin-1beta, and monocyte chemoattractant protein-1 immediately after herniation: an experimental study using a new hernia model. *Spine (Phila Pa 1976).* 2005;30(1):55-61.
 15. Kikuchi T, Nakamura T, Ikeda T et al. Monocyte chemoattractant protein-1 in the intervertebral disc. A histologic experimental model. *Spine (Phila Pa 1976).* 1998;23(10):1091-9.
 16. Yoshida M, Nakamura T, Kikuchi T et al. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 in primary cultures of rabbit intervertebral disc cells. *J Orthop Res.* 2002;20(6):1298-304.
 17. Burke JG, G Watson RW, Conhyea D et al. Human nucleus pulposus can respond to a proinflammatory stimulus. *Spine (Phila Pa 1976).* 2003;28(24):2685-93.
 18. Dirig DM, Salami A, Rathbun ML et al. Characterization of variables defining hindpaw withdrawal latency evoked by radiant thermal stimuli. *J Neurosci Methods.* 1997;76(2):183-91.
 19. Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Methods.* 1994;53(1):55-63.
 20. Sasaki N, Kikuchi S, Konno S et al. Anti-TNF-alpha antibody reduces pain-behavioral changes induced by epidural application of nucleus pulposus in a rat model depending on the timing of administration. *Spine (Phila Pa 1976).* 2007;32(4):413-6.
 21. Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain.* 1992;50(3):355-63.
 22. Koltzenburg M, Wall PD, McMahon SB. Does the right side know what the left is doing? *Trends Neurosci.* 1999;22(3):122-7.
 23. Abbadie C, Lindia JA, Cumiskey AM et al. Impaired neuropathic pain responses in mice lacking the chemokine receptor CCR2. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100(13):7947-52.
 24. Jeon SM, Lee KM, Cho HJ. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 in rat dorsal root ganglia and spinal cord in experimental models of neuropathic pain. *Brain Res.* 2009;1251:103-11.
 25. Zhang J, De Koninck Y. Spatial and temporal relationship between monocyte chemoattractant protein-1 expression and spinal glial activation following peripheral nerve injury. *J*

- Neurochem. 2006;97(3):772-83.
26. Bhangoo S, Ren D, Miller RJ et al. Delayed functional expression of neuronal chemokine receptors following focal nerve demyelination in the rat: a mechanism for the development of chronic sensitization of peripheral nociceptors. Mol Pain. 2007;3:38.