

# 동물통증모델과 행동관찰실험

## Animal Pain Models and Behavior Tests

**박종연**

울산대학교 의과대학 마취통증의학교실

**Jong Yeon Park, M.D., Ph.D.**

Department of Anesthesiology and Pain Medicine, University of Ulsan, College of Medicine, Seoul, Korea

책임저자주소: 138-736, 서울시 송파구 아산병원길 86

서울아산병원 마취통증의학과

Tel: 02-3010-3867, Fax: 02-470-1363

E-mail: jongyeon\_park@amc.seoul.kr

투고일자: 2011년 4월 8일 심사일자: 2011년 4월 26일 게재확정일자: 2011년 5월 6일

### Abstract

Animal pain models are essential for understanding the mechanism of pain and development of effective therapy for its management. Various animal pain models have been developed to simulate the clinical pain conditions with assorted etiology. Research into the connectivity of systems, as in single unit activity or anatomical tract tracing studies, can define linkages, but the behavioral relevance of these linkages to pain or nociception can only be assessed in the context of the intact and unanesthetized organism. A systematic study of behavior in well-defined paradigms can provide insights that are not obvious in the complexity of human behavior. Such mechanistic dissection in animal models can reveal elements that are important components to the overall pain behavior. Development of these animal pain models has contributed enormously in understanding the pain and underlying peripheral as well as central patho-

genic mechanisms. Research has resulted in the development of new therapeutic agents for pain management, and the preclinical data acquired with these animal pain models have been consecutively applied to effective pain management in clinical fields. The present review will briefly introduce the methodology, and characteristics of various animal pain models.

**Key Words:** Pain, Experimental model, Animal behavior

### 서 론

동물통증모델은 통증의 기전을 이해하고, 효과적인 통증치료약물이나 치료법을 개발하는데 필수적인 부분이다. 임상에서 만나게 되는 통증 환자들은 다양한 발병원인과 증상을 호소하는데, 이러한 통증환자들을 대상으로 하는 임상연구는 많은 위험과 윤리적 제약이 따르게 된다. 그러므로, 통증환자들의 상태와 가장 유사한 동물통증모델을 만들기 위한 노력이 진행되고 있으며, 현재까지 다양한 동물통증모델이 개발되어 통증연구에 사용되고 있다. 잘 갖추어진 환경에서 동물통증모델을 통해 얻어진 체계적인 연구결과는 통증으로 인해 나타나는 다양하고 복잡한 인간의 행동과 증상을 이해하는데 도움을 준다. 다양한 동물통증모델이 개발되어 통증과 이에 수반된 말초 또는 중추적 기전을 이해하는데 많은 기여를 하였으며, 이렇게 얻어진 전임상 연구결과들은 통증환자들을 치료하는데 임상적으로 응용되고 있다. 본 글에서는 많이 사용되는 동물통증모델에 대하여 제작방법과 특징을 간략히 소개하고자 한다.

## 본 론

### 1. Chronic constriction injury (CCI)

Bennett 과 Xie 는 흰쥐를 대상으로 좌골신경을 느슨하게 결찰하는 말초 단일신경병증 모델을 제안하였다.<sup>1</sup> 전신마취하에서 뒷다리의 둔근(gluteus)과 대퇴이둔근(biceps femoris) 사이 피부에 3 cm 절개 후 넓적다리의 중간부분에 위치한 좌골신경을 노출시킨다. 좌골신경을 박리하여 7 mm 정도 주변 조직과 분리시킨 후 삼분지 근위부에서 4-0 silk 또는 chromic gut 를 이용하여 0.5-1 mm 간격으로 4회 느슨하게 결찰한다. 너무 강하게 결찰하면 운동기능이 손상되므로, 운동기능 손상 없이 신경병증 통증만 나타나는 정도로 결찰해야 한다. 결찰 중 단일수축이 나타나는 순간까지 결찰하는 것이 중요하며, 결찰 시 신경외막의 혈액순환이 차단되지 않도록 해야 한다.

### 2. Partial sciatic nerve ligation (PSL/Seltzer model)

Seltzer에 의해 제안되었다.<sup>2</sup> 흰쥐의 좌측 뒷다리를 면도 후 피부를 절개하여 넓적다리의 상부에서 좌골신경을 노출시킨다. 후이두반건형근신경(posterior biceps semitendinosus nerve)이 좌골신경에서 분리되어 나오는 지점의 원위부에서 8-0 silk suture 를 이용하여 좌골신경의 후방 1/3 또는 1/2 을 단단히 결찰한다. 비교적 제작이 쉽고 실험을 진행하기 무난한 동물통증모델이라고 생각된다.

### 3. Spinal nerve ligation (SNL)

Kim 과 Chung 에 의해 제안되었다.<sup>3</sup> 전신마취하에서 흰쥐를 엷드린 자세로 놓고 등의 하부를 면도한다. 후장골능선 근처에서 2 cm 길이로 피부를 절개한 후 좌측 요부 척수신경을 찾아 접근한다.

현미경하에서 좌측 제 6 요추부 횡돌기와 천추부가 잘 노출되도록 한 후 제 6 요추부 횡돌기 일부를 제거하고 척추간공을 통해 나와 비스듬히 외하부로 함께 진행하는 제 4, 5 요부 척수신경을 찾아 유리봉으로 조심스럽게 분리한 후 제 5 요부 척수신경을 후근신경절 원위부에서 6-0 black silk로 두 번 단단히 결찰한다. 같은 방법으로 천추부 상단부 장골능 직

하방에서 제 6 요부 척수신경도 결찰한다. 수술부위를 지혈하고 4-0 vicryl로 근육과 피부를 2 단계 봉합한다. 제 4 요부 척수신경을 결찰 할 경우 운동기능이 손상되므로 주의한다.

### 4. Spared nerve injury (SNI)

Decosterd 와 Woolf 에 의해 제안되었다.<sup>4</sup> 전신마취하에서 흰쥐의 좌측 넓적다리의 측면 피부를 면도하고 절개한다. 대퇴이둔근(biceps femoris)을 분리한 후 좌골신경의 세 말단 분지(비복신경, 총비골신경, 경골신경)를 노출시킨다. 비복신경을 제외한 총비골신경과, 경골신경을 5-0 silk 로 각각 단단히 결찰한 후 그 말단부를 2 mm 가량 절단하여 제거한다. 결찰 도중 비복신경을 접촉하거나 손상되지 않도록 각별히 주의해야 한다. 신경결찰 및 축삭절단하는 조합에 따라 두 가지 변형이 제안되었다. SNIv(t)는 비복신경과 총비골신경을 결찰하는 변형이며, SNIv(s,cp)는 경골신경만을 결찰 및 축삭절단하는 변형된 방법이다.<sup>5,6</sup>

### 5. Vincristine-induced neuropathy

Vincristine은 유방암, 백혈병, 림프종, 원발성 뇌종양 등을 포함한 악성종양에 광범위하게 사용되는 항암치료제이다. 그러나 vincristine 사용 후 말초신경섬유에서 신경독성이 나타나며 감각성 또는 운동성 신경병증이 나타난다고 보고되었다. 항암치료제 중 vincristine은 모든 환자, 특히 치료용량을 사용하는 환자에서도 예측 가능하고 일정한 형태의 신경독성을 유발한다.<sup>7</sup> 통증이 동반된 감각 이상이 가장 먼저 나타나며 용량에 비례하는 것으로 알려져 있다. 신경병증이 진행되면 축삭이 소실되며 운동기능도 함께 소실된다. Vincristine은 말초신경계에서 C 신경섬유 통각수용기 신경세포의 과반응성을 유도한다고 알려져 있다.<sup>8</sup> Vincristine으로 신경병증을 유발하는 방법은 vincristine (20, 75, 100 또는 200 µg/kg)을 꼬리정맥을 통해 1일 1회 정맥주사하며, 첫 1-5일간 투여하고 2일간 투여하지 않고 8-13일에 투여한다.<sup>9</sup>

### 6. Incision model

흰쥐의 절개모델은 Brennan에 의해 제안되었다.<sup>10</sup> 일반적으로 수술 후 통증은 급성통증의 한 형태로 생각되고 있으며, 흰쥐의 절개모델은 인간의 수술 후 통증 상태와 유사하다고 생각되고 있다.

절개모델의 제작은 전신마취상태에서 좌측 족저부를 깨끗이 소독한 후 발꿈치에서 0.5 cm 전방에서부터 종축을 따라 11

번 수술용 칼로 피부를 1 cm 절개하고 족저근을 들어올려 근막과 근육을 종축으로 다시 한 번 절개 및 분리 후 면봉으로 가볍게 압박하여 지혈시킨다. Nylon 5-0으로 창상봉합 후 감염방지를 위해 항생제 연고를 도포한다. 관찰기간 중 감염이 발생하거나 창상이 벌어진 경우는 실험에서 제외한다.

### 7. Intrathecal catheterization

동물통증모델 제작 후 척수강내로 실험약물을 투여하는 방법으로, PE-10 (polyethylene-10) 카테터를 척수강내로 삽입한 후 카테터를 통해 약물을 주입하는 방법이다.<sup>11</sup> 전신마취상태에서 마스크를 씌우고 자발호흡을 유지시키는 마취상태에서 실험쥐를 입체정위고정대(stereotaxic frame)에 고정시킨 후 후두경부 정중선에서 절개하며 근육을 분리하고 경막을 주사침으로 천자하여 척수액이 나오는지 확인 후 길이 8.5 cm의 PE-10 카테터를 요부확장부인 제 12 흉추와 제 1 요추부위에 카테터의 끝이 위치하도록 척수강내에 거치한다. 카테터 거치 시 현미경을 사용하면 척수손상을 감소시킬 수 있다. 흰쥐가 마취에서 회복된 후 보행자세, 척추의 기형, 환부측 다리의 구부림 등을 관찰하여 운동기능 손상 증후가 보이면 실험에서 제외시킨다. 최소한 5일 이상 경과한 뒤 몸무게가 수술전과 비슷해지면 약물투여 실험을 진행할 수 있다. 투여약물은 5-10  $\mu$ l의 용량을 카테터에 연결한 Hamilton Microliter<sup>®</sup> 주사기(Hamilton Co., USA)로 30초에 걸쳐 서서히 척수강내로 주사하고, 동량의 생리식염수를 주사하여 카테터내의 약물이 척수강내로 모두 주입되게 한다.

### 8. Direct lumbar puncture

척수강내로 실험약물을 투여 시 카테터를 통해 투여하는 방법 이외에 주사바늘을 척수강내로 직접 천자하여 약물을 투여하는 방법도 있다.<sup>12</sup> 전신마취상태에서 마스크를 씌우고 자발호흡을 유지시키는 마취상태에서 등을 면도한 후 소독한다. 복부에 둥근 물체를 받쳐놓아 척추사이 공간이 넓어지게 한다. Hamilton syringe에 약물을 채운 후 0.5-inch, 30-gauge 주사바늘에 연결하여 제 5, 6 요부 사이틈에 직접 천자한다. 천자 시 tail flick 또는 paw flick이 나타나면 주사바늘이 지주막하공간으로 정확히 삽입되었음을 알 수 있다.

### 9. Up-down method

동물통증모델 제작 후 기계적 이질통의 정도를 측정하기 위한 방법으로 Chaplan 등에 의해 기술되었다.<sup>13</sup> 흰쥐를 그물

눈의 크기가 2×2 mm 인 철망 실험대 위에 설치된 아크릴 상자에 넣고 15분 이상 적응시킨 뒤, 쥐의 움직임 등이 조용해지면 8개의 연속된 굵기의 von Frey filament (0.4, 0.6, 1, 2, 4, 6, 8, 15 g, Stoelting, USA)를 사용하여 연속적인 반응을 up-down method로 평가한다. Filament 를 좌측 환부 발바닥에 수직으로 접촉시키고 5-6초간 유지시켜 쥐가 신속한 회피반응을 보이거나 또는 hairs를 떼면서 즉시 움찔하거나 발바닥을 핥으면 양성반응을 보인 것으로 간주한다. 중앙부의 von Frey filament 부터 자극하여 양성반응을 보이면 약한 filament로 자극하고, 양성반응이 없으면 강한 filament 로 자극하며 진행한다. 양성반응을 나타내는 최소의 자극 크기를 역치로 하며, 15 g 이상에서도 반응이 없을 때를 상한선으로 하여 더 이상 적용하지 않는다.

## 결론

현재까지 다양한 동물통증모델이 개발 되어있고, 약물 투여 방법이나 통증을 객관적으로 측정하기 위한 측정 방법도 다양하게 개발되어 있다. 각 방법의 장단점을 숙지하고 충분한 연습을 통해 실험방법을 익힌다면 좋은 결과를 얻을 수 있을 것이다.

## References

1. Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988;33:87-107.
2. Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain* 1990;43:205-18.
3. Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 1992;50:355-63.
4. Decosterd I, Woolf CJ. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain* 2000;87:149-58.
5. Bourquin AF, Suveges M, Pertin M, Gilliard N, Sardy S, Davison AC, Spahn DR, Decosterd I. Assessment and

- analysis of mechanical allodynia-like behavior induced by spared nerve injury (SNI) in the mouse. *Pain* 2006; 122:14. e1-14.
6. Kohno T, Moore KA, Baba H, Woolf CJ. Peripheral nerve injury alters excitatory synaptic transmission in lamina II of the rat dorsal horn. *J Physiol* 2003;548: 131-8.
  7. Pal PK. Clinical and electrophysiological studies in vincristine induced neuropathy. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1999;39:323-30.
  8. Tanner KD, Reichling DB, Levine JD. Nociceptor hyper-responsiveness during vincristine-induced painful peripheral neuropathy in the rat. *J Neurosci* 1998;18:6480-91.
  9. Tanner KD, Levine JD, Topp KS. Microtubule disorientation and axonal swelling in unmyelinated sensory axons during vincristine-induced painful neuropathy in rat. *J Comp Neurol* 1998;395:481-92.
  10. Brennan TJ, Vandermeulen EP, Gebhart GF. Characterization of a rat model of incisional pain. *Pain* 1996; 64:493-501.
  11. Yaksh TL, Rudy TA. Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiol Behav* 1976;17:1031- 6.
  12. Xu JJ, Walla BC, Diaz MF, Fuller GN, Gutstein HB. Intermittent lumbar puncture in rats: a novel method for the experimental study of opioid tolerance. *Anesth Analg* 2006;103:714-20.
  13. Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Methods* 1994;53:55-63.