



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

치의학석사 학위논문

발치 후 삼차신경절 신경세포의
변화

Changes of Trigeminal Ganglion Neurons
after Tooth Extraction

2013년 2월

서울대학교 치의학대학원

치 의 학 과 신 경 생 물 학 전 공

장 은 수

발치 후 삼차신경절 신경세포의 변화

지도교수 오 석 배

이 논문을 치의학석사학위논문으로 제출함

2012년 10월

서울대학교 치의학대학원

치 의 학 과

장 은 수

장은수의 석사학위논문을 인준함

2012년 11월

위 원 장 최 세 영 (인)

부 위 원 장 오 석 배 (인)

위 원 정 지 훈 (인)

초 록

발치 후 삼차신경절 신경세포의 변화

장은수

서울대학교 치의학대학원

치 의 학 과

발치에 의한 말초신경의 손상은 삼차신경절 신경세포의 활성을 일으킨다. 이러한 변화는 신경병증적인 악안면 통증의 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다. 치성 구심성 신경섬유는, 그 대부분을 차지하는 것으로 알려진 유해수용성의 작고 수초화되지 않은 C섬유 신경세포와 더불어 일부 존재하는 낮은 역치의 기계수용성의 큰 수초화된 A β 섬유 신경세포로 구성된다. 발치 후 ATF3 발현을 통해 삼차신경절의 치성 구심성 신경세포에 손상이 나타나는 것이 알려져 있지만, 현재까지 발치 후 시간경과에 따른 ATF3의 발현양상 및 신경세포의 종류에 따른 ATF3 발현양상의 차이는 명확하게 알려져 있지 않기에 이를 규명하고자 본 연구를 수행하였다.

수컷 Sprague-Dawley 쥐의 하악 구치를 발치한 후 2시간, 4시간, 8시간, 1일, 7일, 14일, 21일, 30일이 경과한 쥐의 삼차신경절을 적출하여 슬라이드를 제작하였다. 면역형광염색법을 이용해 손상된 신경세포의 표지자인 ATF3와 각각 C섬유 및 A β 섬유 신경세포의 표지자인

peripherin과 neurofilament 200의 항체에 면역반응성을 나타내는 세포의 수를 측정하여, 발치 후 시간에 따른 ATF3의 발현양상 및 신경세포의 종류에 따른 ATF3의 발현양상의 차이를 조사하였다.

발치 후 삼차신경절의 신경세포에서 ATF3의 발현이 관찰되었으며 발치 후 1일에 절편 당 6.1개로 최대값을 보였다. C섬유 및 A β 섬유 신경세포 모두에서 발치 후 시간의 경과에 따라서 ATF3 면역반응성을 보이는 세포의 비율이 증가하여 1일째에 각각 6.5%, 7.4%의 세포에서 ATF3 면역반응성을 보이며 최대값을 나타내었고 그 이후로는 감소하였다. 발치 후 두 신경세포 간에 ATF3의 발현 비율은 동일한 각 시점에서 통계적으로 유의미한 차이를 보이지 않았다. 그리고 손상 받은 신경세포 전체 중 두 종류의 신경세포가 차지하는 비율 또한 각 시점에서의 비교 시에 유의미한 차이를 나타내지 않았다.

이상의 결과를 통해, 발치 후 삼차신경절 신경세포의 손상을 ATF3의 발현으로 확인할 수 있었다. 그리고 치성 구심성 신경의 발치에 의한 손상이 C섬유 및 A β 섬유 신경세포에서 세포의 종류와 무관하게 동일한 양상으로 나타남을 확인하였다.

주요어 : 삼차신경절, 면역형광염색, 신경세포, ATF3

학 번 : 2009-22716

목 차

I. 서론	1
II. 실험재료 및 방법	3
III. 실험결과	6
IV. 고찰	12
V. 참고문헌	15

I. 서론

발치 후 환자들은 신경병증적인 통증, 혹은 그와 유사한 증상을 호소하는 경우가 있다(Berge TI, 2002; Tay and Zuniga, 2007). 그 원인으로 감염원의 신경계 침입이나 하치조신경의 손상에 따른 삼차신경계의 병적 변화 등을 들 수 있지만(Berge TI, 2002; Fried et al., 2001; Kohjitani et al., 2002), 아직 그 기전은 명확하게 알려져 있지 않다. 치아 및 안면부의 유해자극은 삼차신경계의 유해자극감각계에 의해 삼차신경절과 삼차신경핵 복합체를 거쳐 중추신경계로 전달된다(Matthews B, 1985). 삼차감각신경의 손상은 삼차신경계 전반에 걸쳐 신경세포 및 교세포 등 여러 종류의 세포활성을 유발한다(Chudler et al., 1997; Kim et al., 2008; Piao et al., 2006). 이와 같은 삼차신경계의 세포활성은 궁극적으로 신경병증적 통증을 유발할 수 있는 중추신경계의 조성 변화를 일으킬 수 있는 것으로 알려져 있다(Terayama et al., 2008). 삼차신경절은 삼차신경의 세 개의 종지인 안신경, 상악신경 및 하악신경이 합쳐지는 신경절로(Henderson, 1965), 말단의 구심성 감각신경의 손상에 의해 삼차신경절에 존재하는 신경세포 및 교세포에서 여러 가지 세포활성이 일어나는 것이 알려져 있다. 여기에는 직접 손상된 신경세포에서의 activation transcription factor 3(ATF3)의 발현 및 주위 신경세포의 transient receptor potential vallinoid 1(TRPV1)발현, satellite glial cell의 glial fibrillary acidic protein(GFAP)발현 등의 세포활성이 포함된다(Chudler et al., 1997; Gunjikake et al., 2009; Kim et al., 2008; Vang et al., 2012). 이러한 세포의 활성화는 삼차신경계 손상 후의 신경병증적 악안면 통증과 연관된 변화를 일으키는 것

으로 생각된다(Chudler et al., 1997; Gunjikake et al., 2009; Kim et al., 2008; Vit et al., 2006).

치성 구심성 신경은 치아 내부에 직접 축삭말단이 분포하는 말초감각신경으로 치아에 가해지는 유해자극 및 비유해자극을 감지하는 역할을 한다. 그 대부분을 차지하는 것으로 알려진 유해수용성의 작고 수초화되지 않은 C섬유 신경세포와 더불어, 일부 존재하는 낮은 역치의 기계수용성의 큰 수초화된 A β 섬유 신경세포로 구성된다(Narhi et al., 1992; Kim et al., 2011; Park et al., 2006; Vang et al., 2012). 기존의 연구에 따르면 쥐에서 상악 구치를 발치한 경우에 치성 구심성 신경의 손상에 의해 삼차신경절에서 부분적으로 ATF3의 발현양상이 나타났다(Gunjikake et al., 2009). 그러나 하치조신경 및 이신경 손상의 경우(Kim et al., 2008)와는 달리, 발치 후 시간에 따른 ATF3 발현의 변화는 아직 명확하게 알려져있지 않다. 또한, 치성 구심성 신경에서 신경섬유의 수초화 여부, 혹은 신경세포의 종류에 따른 ATF3 발현양상의 차이도 명확하게 알려져 있지 않다.

따라서 본 실험에서는 발치 후 시간에 따른 삼차신경절에서의 ATF3의 발현을 관찰하고 정량화하고자 하였으며, C섬유 신경세포와 A β 섬유 신경세포의 표지자인 peripherin과 neurofilament 200(NF200)에 대한 면역염색법을 이용하여(Lysakowski et al., 1999; Staikopoulos et al., 2007) 신경세포의 종류에 따른 ATF3의 발현 양상을 비교함으로써, 치성 구심성 신경의 세포 종류와 발치 시의 신경세포의 손상 양상 사이의 연관성을 규명하고자 하였다.

II. 실험재료 및 방법

실험동물

본 연구는 서울대학교 동물실험윤리위원회의 검토와 승인 하에 이루어졌으며, 의식이 있는 동물의 실험에 관한 통증연구학회의 윤리적 규정을 준수하였다. 실험동물로는 수컷 Sprague-Dawley 쥐(수술 시점에서 약 180-200g 내외)를 사용하였다. 실험동물에게 실험 1주일 전부터 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 온도와 12시간 명-암 주기의 하우징에서 물과 음식을 자유롭게 공급하였다. 그리고 동물이 받는 고통을 최소화하였다.

수술 과정

총 54마리의 쥐가 실험군 ($n=48$) 및 수술대조군(sham surgery group) ($n=6$)으로 사용되었고 6마리의 쥐가 비수술대조군(naive group)으로 포함되었다. 우레탄(1.2g/kg)의 복강 내 주사로 마취 후 실험군의 쥐에서 우측 하악 제 1, 2 구치를 발치하였다. 모든 쥐에서 반대측은 그대로 두었다. 수술대조군에서는 발치 전까지의 모든 과정을 실험군과 동일하게 수행한 후, 발치를 시행하지 않고 수술 과정을 종료하였다. 시간 경과에 따른 실험을 위하여, 발치 후 2시간, 4시간, 8시간, 1일, 7일, 14일, 21일, 30일의 시점을 설정하고, 각 시점 당 6마리의 쥐를 사용하여 면역조직화학적 분석을 시행하였다.

면역형광염색

발치 후 각각의 경과시점에서 쥐를 생리식염수와 4% paraformaldehyde가 포함된 0.1mol/L phosphate buffer (pH 7.4)로 관류시켰다. 쥐에서 동측의 삼차신경절을 적출하여 후고정액에 담근 채로 4℃에서 overnight한 후 10%에서 30%의 sucrose를 포함한 PBS에 48시간동안 처리하였다. 그 후 동결된 횡단절편(14 μ m 두께)을 슬라이드에 마운팅하였다. 모든 면역조직화학적 과정은 특별한 언급이 없는 한 상온에서 진행되었다. 슬라이드를 PBS로 세척한 후 5% normal goat serum(NGS), 2% BSA, 2% FBS, 0.1% Triton X-100을 포함한 PBS blocking solution에서 1시간동안 처리하였다. 슬라이드는 두 가지 방법으로 이중염색되었다. 각 시점 별로 n=3 씩 두 군으로 나누어서 첫 번째 군은 peripherin과 ATF3, 두 번째 군은 NF200과 ATF3에 대한 이중염색을 수행하였다. 첫 번째 군은 goat anti-peripherin antibody(1:50; Santa Cruz biotechnology, Inc.)와 rabbit anti-ATF3 antibody(1:500; Santa Cruz biotechnology, Inc.)을 사용하였고, 두 번째 군은 mouse anti-neurofilament 200 antibody (1:1000; Sigma-Aldrich, MO 63101, USA)와 rabbit anti-ATF3 antibody(1:500; Santa Cruz biotechnology, Inc.)을 사용하였다. 두 군은 모두 4℃에서 하루 동안 배양되었다. 다음 과정으로 슬라이드를 다시 세척 한 후, 첫 번째 군에서 FITC-conjugated donkey anti-goat IgG (H+L) antibody (1:200; Jackson ImmunoResearch)와 Cy3-conjugated donkey anti-rabbit IgG (H+L) antibody(1:200; Jackson ImmunoResearch), 두 번째 군에서 FITC-conjugated donkey anti-mouse IgG (H+L) antibody (1:200; Jackson

ImmunoResearch)와 Cy3-conjugated donkey anti-rabbit IgG (H+L) antibody(1:200; Jackson ImmunoResearch)를 사용하여 1시간 동안 배양하였다. 모든 절편은 Vectashield® (Vector Laboratories, Inc., Burlingame, CA, USA)로 마운팅하였고, 적절한 필터를 사용한 공초점으로 시각화하였다(FV-300; Olympus, Tokyo, Japan).

분석 및 통계

ImageJ(National Institutes of Health, USA)의 auto-threshold와 particle analysing tool을 사용하여 각 절편에서 peripherin 또는 NF200에 면역반응성을 가진 세포의 수를 측정하고 cell counter tool을 사용하여 ATF3에 면역반응성을 가진 세포의 수를 측정하였다. 모든 데이터는 평균값(means) ± 표준오차(S.E.M.)으로 표시하였다. 통계적 유의성의 검토를 위하여 Prism 6(GraphPad Software, Inc., San Diego, CA)을 사용하였으며, 시간에 따른 변화는 one way analysis of variance(ANOVA)로 평가하고 신경세포의 종류에 따른 ATF3 발현 비율 차이의 유의성은 Bonferroni's multiple comparison test로 평가하였다.

III. 실험결과

발치 후 ATF3의 발현

비수술대조군과 수술대조군에서는 ATF3의 발현이 관찰되지 않았다.(Fig 1A; panel a). 그러나 우측 하악 제1, 2 구치를 발치한 쥐의 삼차신경절의 하악 연관 부위에서는 현저히 증가된 ATF3의 발현이 관찰되었다(Fig 1A; panel c).

발치 후 경과된 시간에 따라 분석해보면, ATF3가 발현된 핵의 개수는 발치 후 시간에 따라 증가하여, 발치 후 4시간에서 발치 후 7일까지의 시점에서 대조군과 비교시에 통계적으로 유의미한 ATF3 발현양의 증가를 나타내었다. 발치 후 1일에서 ATF3-면역반응성 (immunoreactive; IR) 핵의 개수가 최대값을 보였고(절편 당 6.1 ± 1.1 개의 ATF3 면역반응성 핵, $n=6$, $P<0.0001$) (Fig 1A; panel c-d, Fig 1B) 이후로는 점차 감소하였다(Fig 1B).

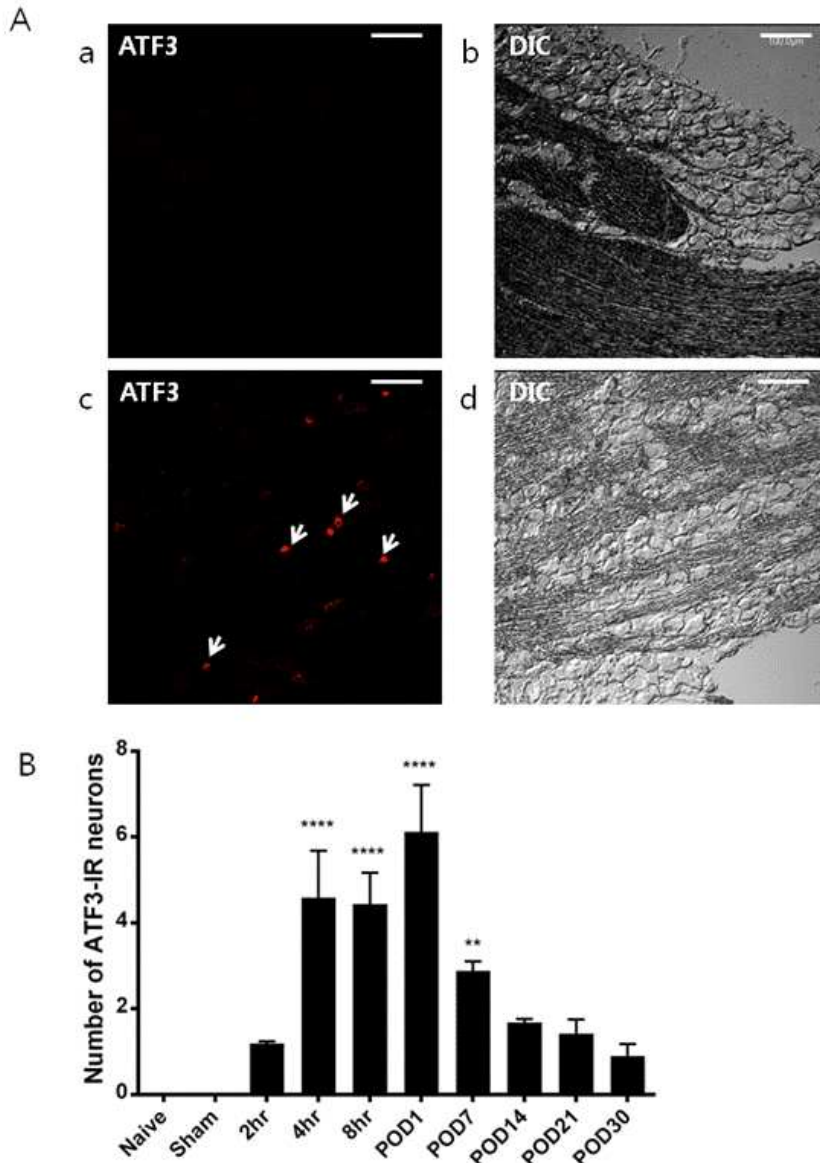


Figure 1. Expression of ATF3 in TG after tooth extraction. **A**, Representative photographs show immunoreactivity of ATF3 (red, Cy3 filter) in TG after tooth extraction. ATF3-IR was not detected in sham surgery group at 2 hours (*a*). Differential interference contrast (DIC) image (*b*). ATF3-IR was detected in the nuclei of mandibular TG neurons at 1 day after tooth extraction. Arrows indicate ATF3-IR neurons (*c*). And its DIC image (*d*). The scale bar indicates 100 μ m (*a-d*). **B**, Temporal changes of ATF3 expression were determined at each time point analyzed. ATF3-positive neurons were significantly increased from 4 hours through 7 days. ** $P < 0.01$; **** $P < 0.0001$ vs. naïve.

신경세포의 종류에 따른 ATF3의 발현

모든 절편에서 각각 C섬유 신경세포의 표지자인 peripherin의 발현과(Fig 2A; panel a) A β 섬유 신경세포의 NF200의 발현을 확인하였다(Fig 2A; panel d). 각각의 표지자에 의해 확인된 두 종류의 신경세포의 전체 수를 측정하고, 그 중 ATF3 면역반응성 핵을 동시에 가진 신경세포의 수의 비율을 측정하였다.

발치 후 경과된 시간에 따라 C섬유 신경세포에서 ATF3 면역반응성 핵의 발현 비율이 증가하여 발치 후 1일에 최대값을 보이고($6.5 \pm 1.2\%$, $n=3$, $P<0.05$) (Fig 2A; panel b-c, Fig 2B) 이후 점차 감소하였다(Fig 2B). A β 섬유 신경세포에서도 ATF3 면역반응성 핵의 발현 비율이 발치 후 점차 증가하여 발치 후 1일에 최대값을 보이고($7.4 \pm 1.5\%$, $n=3$, $P<0.01$) (Fig 2A; panel e-f, Fig 2B) 이후 점차 감소하였다(Fig 2B).

C섬유 신경세포와 A β 섬유 신경세포 간에 발치 후 동일한 시점에서 핵에서의 ATF3 발현 비율을 비교하였을 때, 두 신경세포 사이에 ATF3 면역반응성 핵을 가진 세포의 비율이 통계적으로 유의미한 차이를 보이지 않았다(Fig 2B).

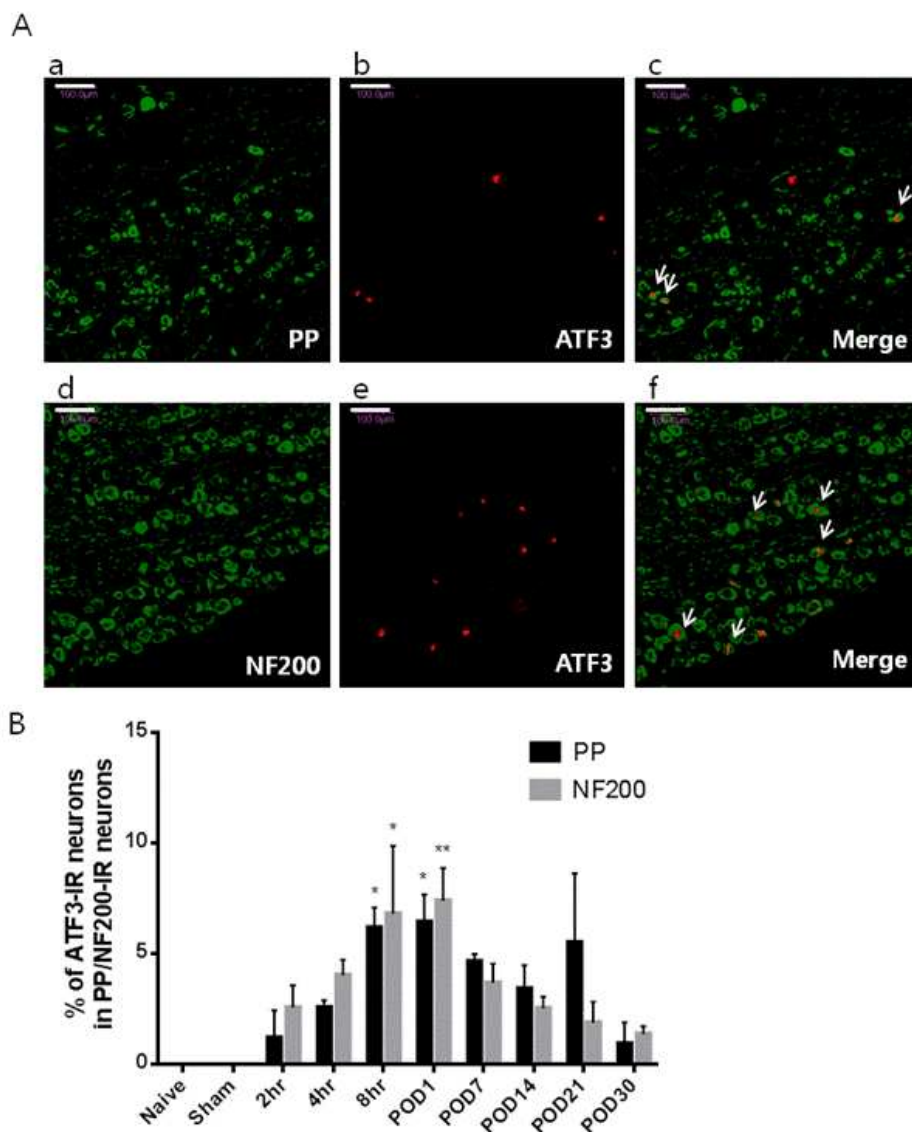


Figure 2. Expression of ATF3 in after tooth extraction in C-fiber and A β -fiber TG neuron. **A**, Representative photographs show immunoreactivity of ATF3 (red, Cy3 filter) and peripherin and NF200 (green, FITC filter) in TG. Peripherin, a marker of small C-fiber neurons was detected (a). And NF200, a marker of large A β -fiber neurons was detected (d). ATF3-IR was detected in the nuclei of mandibular TG neurons at 1 day after tooth extraction. (b,e). Peripherin- and ATF3-merged neurons were indicated by arrows (c). NF200- and ATF3-merged neurons were indicated by arrows (f). **B**, Temporal changes of ratio of ATF3 expression in C-fiber and A β -fiber TG neuron were determined at each time point analyzed. Ratio of ATF3-positive neurons were significantly increased from 8 hours through 1 days in both C-fiber and A β -fiber TG neuron. *P<0.05; **P<0.01 vs. naive.

ATF3가 발현된 신경세포 중 각 신경세포가 차지하는 비율

앞선 결과에서 발치 후 시간에 따른 ATF3 발현양이 통계적으로 유의미한 증가를 보였던 발치 후 4시간, 8시간, 1일, 7일의 네 개 군에서 ATF3가 발현된 신경세포 전체 중 ATF3와 peripherin 혹은 ATF3와 NF200이 같이 발현된 세포의 비율을 각각 계산하였다. 각각의 시점에서 두 종류의 세포 간의 차이를 비교하였을 때 네 시점 모두에서 peripherin이 같이 발현된 세포와 NF200이 같이 발현된 세포의 비율이 통계적으로 유의미한 차이를 보이지 않았다(Fig 3B).

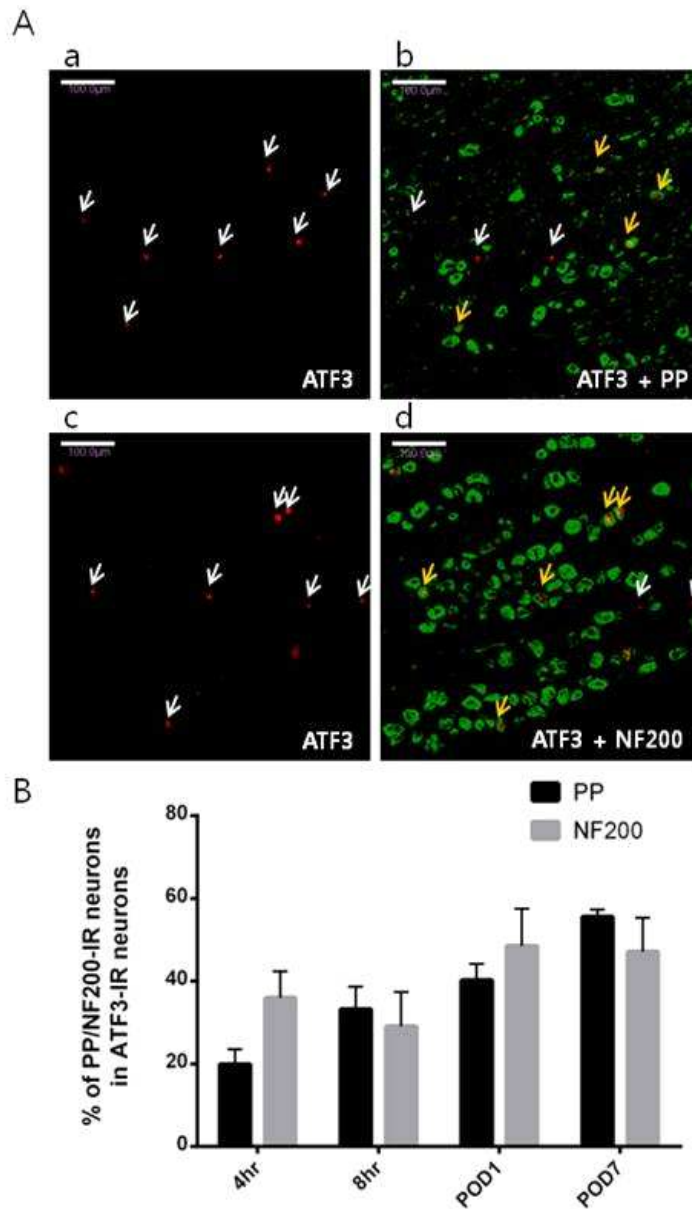


Figure 3. C-fiber neurons and $A\beta$ -fiber neurons among injured neurons in TG. **A**, Representative photographs show immunoreactivity of ATF3 (red, Cy3 filter) and peripherin and NF200 (green, FITC filter) in TG. ATF3-IR was detected (white arrow) in TG at 1 day after extraction (*a,c*). Peripherin- and ATF3-merged neurons were indicated by yellow arrows (*b*). And NF200- and ATF3-merged neurons were indicated by yellow arrows (*d*). **B**, Temporal changes of ratio of C-fiber and $A\beta$ -fiber neurons in ATF3-IR neurons in TG.

IV. 고찰

이번 연구의 목적은 ATF3의 발현을 통해 발치에 의한 삼차신경절 신경세포의 손상을 확인하고, 치성 구심성 신경의 종류에 따라 손상 양상에 차이가 존재하는지 면역조직화학적 방법을 사용하여 확인하는 것이다. 그러므로 본 연구는 발치 후 종종 발생하는 악안면 영역의 신경병적인 통증의 발생기전을 밝히는 연구의 기초적인 자료로서 그 의미를 가진다. 본 연구에서는 ATF3를 손상 받은 신경세포의 표지자로 이용하였고 (Gunjikake et al., 2009), peripherin과 NF200을 각각 C섬유 및 A β 섬유 신경세포의 표지자로 이용하였다(Lysakowski et al., 1999; Staikopoulos et al., 2007). 이 연구를 통해 얻은 결과를 정리하면, 1) 발치에 의해 삼차신경절 신경세포가 손상되었음을 ATF3의 발현을 통해 확인하였고, 2) ATF3의 시간경과에 따른 발현양상은 C섬유 신경세포와 A β 섬유 신경세포에서 유의미한 차이를 보이지 않았으며, 3) 손상 받은 전체 신경세포에서 C섬유 및 A β 섬유 신경세포가 차지하는 비율은 발치 후 시간 경과에 따라 유의미한 변화를 보이지 않았음을 알 수 있었다.

발치 후 나타난 삼차신경절 신경세포의 ATF3 발현은 치성 구심성 신경의 직접적인 손상을 의미한다(Kim et al., 2008; Gunjikake et al., 2009). 본 연구에서는 이 ATF3의 발현양상을 발치 후 경과한 시간에 따라 정량적으로 측정하였다. 이에 따르면, ATF3의 발현 정도가 발치 후 1일에 최대값을 가진 후 감소하였는데, 이는 하치조신경 및 이신경 절단 후 14일까지 ATF3의 발현정도가 동일한 수준으로 유지되었던 기존 연구의 양상(Kim et al., 2008)에 비하여 상대적으로 이른 시점에 ATF3 발현정도의 감소를 볼 수 있었다. 하치조신경 및 이신경의 절단

시에 신경세포의 축삭돌기가 거의 완전히 손상되는데 비하여 각 치아에는 치성 구심성 신경을 구성하는 각 신경세포의 축삭돌기 중 일부만이 분지하여 치아 내로 분포하므로(Johansson et al., 1992), 하악 구치의 발치 시에 이 축삭의 분지만 절단되어 신경세포가 부분적인 손상만을 받을 것으로 유추할 수 있다. 이러한 신경손상 정도의 차이가 발치 시와 신경의 절단 시에 ATF3 발현의 감소가 나타나는 시점의 차이가 나타난 원인으로 작용할 것으로 추정되나, 이를 확인하기 위해서는 추후 연구를 통해 통제된 실험조건에서의 비교분석이 필요할 것이다.

발치 후 항-peripherin 항체로 표지된 C섬유 신경세포와 항-NF200 항체로 표지된 A β 섬유 신경세포 둘 모두에서 일부 세포의 핵에 ATF3의 발현이 관찰되었다. 이 결과는 C섬유 및 A β 섬유 신경세포가 모두 발치에 의해 직접적으로 손상되었음을 의미한다. 이 결과는 상기의 두 신경세포가 모두 치성 구심성 신경을 구성함을 밝힌 기존 연구와 일치한다(Kim et al., 2011; Narhi et al., 1992; Park et al., 2006; Vang et al., 2012). 두 신경세포 모두 ATF3의 발현이 발치 후 1일에 최대로 증가된 후 그 이후로는 감소하는 양상을 보였으며 이는 발치 후 삼차신경절 전체에 나타난 ATF3의 발현 양상과도 일치하였다. 발치 후 각각의 동일한 시점에서 C섬유 신경세포와 A β 섬유 신경세포에서의 ATF3의 발현 비율을 비교하였을 때 통계적으로 유의미한 차이를 보이는 시점은 발견되지 않았다.

마지막으로 ATF3가 발현된 세포를 손상된 신경세포로 가정하고 전체 손상된 세포에서 C섬유, A β 섬유 각 신경세포가 차지하는 비율을 살펴보면, Fig 1에서 ATF3의 증가가 유의미한 결과를 보였던 발치 후 4시간, 8시간, 1일 및 7일 군 모두에서 C섬유 및 A β 섬유 신경세포가 전체 손상된 신경세포 중 차지하는 비율은 두 세포 사이에 유의미한 차이

를 보이지 않았다. 이 결과는 C섬유 신경세포와 A β 섬유 신경세포에서 ATF3의 발현시점이나 발현의 지속시간에 차이가 존재하지 않음을 시사한다. 그러나 본 실험의 조건에서는 각 절편에 대해 두 신경세포 중 한 종류씩만 각각 표지하였기 때문에 직접적으로 두 신경세포의 비율의 차이를 비교하는 것이 불가능하므로 비교에 있어서 한계를 가진다. 그러므로 더 정확한 비교분석을 위해서는 각 절편에서 두 종류 세포를 동시에 표지하는 실험 조건을 사용해야 할 것이다.

이러한 결과를 종합해 보면, 치성 구심성 신경은 발치에 의해 손상을 받아 세포의 활성이 나타나며 이 때 ATF3의 발현은 C섬유 및 A β 섬유 신경세포에서 유사한 양상을 보였다. 이는 발치에 의한 ATF3의 발현이 신경세포의 종류와는 무관하게 공통된 기전으로 나타남을 의미한다. 이 결과는 발치에 의한 삼차감각신경계의 손상이 신경병적 통증의 발생을 유발하는 기전과 관련하여 삼차신경절 수준에서의 연구를 위한 기초 자료로서 그 의미가 있다. 또한 발치에 의한 세포의 활성에 대하여 시간에 따른 정량적인 해석을 시도하여 이후 치성 구심성 신경의 손상과 관련된 세포수준에서의 연구에 기여할 것으로 사료된다.

V. 참고문헌

- Berge TI (2002). Incidence of chronic neuropathic pain subsequent to surgical removal of impacted third molars. *Acta Odontol Scand.* 60(2):108-12.
- Chudler EH, Anderson LC, Byers MR (1997). Trigeminal ganglion neuronal activity and glial fibrillary acidic protein immunoreactivity after inferior alveolar nerve crush in the adult rat. *Pain* 73:141-9
- Fried K, Bongenhielm U, Boissonade FM, Robinson PP (2001). Nerve injury-induced pain in the trigeminal system. *Neuroscientist.* 7(2):155-65
- Gunjikake KK, Goto T, Nakao K, Kobayashi S, Yamaguchi K (2009). Activation of satellite glial cells in rat trigeminal ganglion after upper molar extraction. *Acta Histochem Cytochem.* 42(5):143-9
- Henderson WR (1965). The anatomy of the gasserian ganglion and the distribution of pain in relation to injections and operations for trigeminal neuralgia. *Ann R Coll Surg Engl.* 37(6):346-73
- Johansson CS, Hildebrand C, Povlsen B (1992). Anatomy and developmental chronology of the rat inferior alveolar nerve. *Anat Rec.* 234(1):144-52
- Kim HY, Park C, Cho I, Jung SJ, Kim JS, Oh SB (2008). Differential changes in TRPV1 expression after trigeminal sensory nerve injury. *J Pain* 9(3):280-8
- Kim HY, Chung G, Jo HJ, Kim YS, Bae YC, Jung SJ, Kim JS, Oh SB (2011). Characterization of dental nociceptive neurons. *J Dent Res.* 90(6):771-6

- Kohjitani A, Miyawaki T, Kasuya K, Shimada M (2002). Sympathetic activity-mediated neuropathic facial pain following simple tooth extraction: a case report. *Cranio*. 20(2):135-8
- Lysakowski A, Alonto A, Jacobson L (1999). Peripherin immunoreactivity labels small diameter vestibular 'bouton' afferents in rodents. *Hear Res*. 133(1-2):149-54
- Matthews B (1985). Peripheral and central aspects of trigeminal nociceptive systems. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 19;308(1136):313-24
- Narhi M, Jyvasjarvi E, Virtanen A, Huopaniemi T, Ngassapa D, Hirvonen T (1992). Role of intradental A- and C-type nerve fibres in dental pain mechanisms. *Proc Finn Dent Soc*. 88 Suppl 1:507-16
- Park CK, Kim MS, Fang Z, Li HY, Jung SJ, Choi SY, Lee SJ, Park K, Kim JS, Oh SB (2006). Functional expression of thermo-transient receptor potential channels in dental primary afferent neurons: implication for tooth pain. *J Biol Chem*. 23;281(25):17304-1
- Piao ZG, Cho IH, Park CK, Hong JP, Choi SY, Lee SJ, Lee S, Park K, Kim JS, Oh SB (2006). Activation of glia and microglial p38 MAPK in medullary dorsal horn contributes to tactile hypersensitivity following trigeminal sensory nerve injury. *Pain*. 121(3):219-31.
- Staikopoulos V, Sessle BJ, Furness JB, Jennings EA (2007). Localization of P2X2 and P2X3 receptors in rat trigeminal ganglion neurons. *Neuroscience*. 5;144(1):208-16
- Tay AB, Zuniga JR (2007). Clinical characteristics of trigeminal nerve injury

referrals to a university centre. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 36(10):922–7

Terayama R, Omura S, Fujisawa N, Yamaai T, Ichikawa H, Sugimoto T (2008). Activation of microglia and p38 mitogen-activated protein kinase in the dorsal column nucleus contributes to tactile allodynia following peripheral nerve injury. *Neuroscience* 153(4):1245–55

Vang H, Chung G, Jung SJ, Kim JS, Oh SB (2012). Neurochemical properties of dental primary afferent neurons. *Exp Neurobiol.* 21(2):68–74

Vit J, Jasmin L, Bhargava A, Ohara PT (2006). Satellite glial cells in the trigeminal ganglion as a determinant of orofacial neuropathic pain. *Neuron Glia Biol.* 2(4):247–257

Abstract

Peripheral nerve damage following tooth extraction causes cellular injury response in trigeminal ganglion (TG) neurons, which may contribute to development of neuropathic pain in orofacial area. Using a neuronal injury marker, ATF3, we therefore examined temporal changes of ATF3 expression from 2 hours to 30 days after mandibular molar extraction and also whether there exists difference in ATF3 expression between nociceptive C-fiber and mechanosensitive $A\beta$ -fiber neurons. Nociceptive neurons and mechanosensitive neurons were identified with immunohistochemical detection of peripherin and neurofilament 200, respectively.

ATF3 expression peaked at 1 day after tooth extraction and gradually returned to baseline level. ATF3 expression at 1 days was 6.5% and 7.4% in C-fiber neurons and $A\beta$ -fiber neurons, respectively, with no significant difference between two types of neurons at each time point analyzed. Also, when analyzed at time points with significant increase of ATF3 expression (at 4hr, 8hr, POD1, POD7), proportion of C-fiber and $A\beta$ -fiber neurons was comparable among entire injured TG neurons.

Our results demonstrate that tooth extraction causes neuronal injury in trigeminal ganglion neurons and C-fiber and $A\beta$ -fibers could be similarly damaged by tooth extraction.