

흰 쥐의 만성 통증모델에서 구강건조증이 c-fos 발현에 미치는 영향

김유미¹ · 박민경² · 최자형³ · 조민정¹ · 이민경^{4*}

¹경북대학교 치과대학 구강생리학교실, 대학원생

²경운대학교 치위생학과 부교수

³경운대학교 치위생학과 조교수

⁴동의대학교 의료보건생활대학 치위생학과 부교수

Effects of Xerostomia on C-Fos Expression in a Chronic Pain Model in Rats

Yu-mi Kim¹, Min-Kyoung Park², Ja-Hyeong Choi³, Min-Jung Jo¹, Min-Kyung Lee^{4*}

¹Dept. of Oral Physiology, Kyungpook National University, graduate student

²Dept. of Dental Hygiene, Kyung-Woon University, Associate professor

³Dept. of Dental Hygiene, Kyung-Woon University, Assistant professor

⁴Dept. of Dental Hygiene, Dong Eui University, Associate professor

Objectives: The purpose of this study was to determine whether xerostomia could improve the level of neuropathic pain. To conduct the study, the change in c-fos expression level in the medulla oblongata was confirmed by xerostomia induction using the chronic neuropathic facial pain model.

Methods: mal-positioned dental implant surgery was performed on the extraction site of the mandibular second molar of rats, and 4-diphenylacetoxy-N-methylpiperidine (4-DAMP) (30mg/kg) was injected intraperitoneally after a pain test on the 4th day after surgery. c-fos was counted only in the lamina I and II regions.

Results: A significant increase in c-fos expression was observed when the maxilla was stimulated compared to the mandible in the group induced both neuropathy and xerostomia.

Conclusions: Therefore, it is considered that xerostomia in the facial area is the cause of the expression of chronic pain and the improvement of pain sensation.

Keywords c-fos, medulla oblongata, neuropathic pain, rat, xerostomia

Received on Nov 10, 2023. Revised on Dec 12, 2023. Accepted on Dec 12, 2023.

* Corresponding Author (E-mail: lmk849@deu.ac.kr)

This work was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korea government(MSIT) (NRF-2021R1F1A1063831).

I. 서론

구강을 포함하는 안면영역의 신호전달은 삼차신경계를 중심으로 복잡한 전달체계를 가진다. 대부분 감각신경의 역할을 담당하는 삼차신경은 12개의 뇌신경 중에서 5번째 뇌신경이며 3개로 분지되고 눈신경, 위턱신경, 아래턱신경으로 구분된다. 안면영역에서 발생한 통각은 삼차신경계를 통해 전도되고, 주로 유해수용기의 역할을 하는 A-델타신경세포 및 C-신경섬유가 수집한 통증 정보는 삼차신경 척수감각핵 미측소핵 내로 투사된다[1]. 미측소핵은 척수후각과 같이 층(lamina) 구조를 가지기때문에 연수후

각(medullary dorsal horn)이라고도 부르며, 특히 층 I, II는 주로 A-델타신경세포 또는 C-신경섬유가 전도하는 유해자극이 유입되는 층으로 안면통증을 연구할 때 면역조직화학염색 실험에서 통증 표지자 발현이 집중되는 부분이다[2].

통증 연구를 위해 지표로 사용되는 많은 물질 중에서 c-fos 단백질은 통증 등의 스트레스의 양상을 추적하는 지표로 간주되어 다양한 연구에 활용되고 있다. 또한, 신경 해부학적 표지자로 신경경로와 뇌의 활동을 확인할 수 있는 것으로 자극이 있을 경우 척수 및 뇌에서 c-fos 발현에 대한 연구가 많이 보고되었다[3]. 구강 혹은 안면영역에서 발생하는 통증의 경우에는 다른

인체에 비해 더욱 민감하게 인지되지만 통증의 위치를 정확하게 파악하지 못하는 경우도 있다. 뿐만 아니라 구강 내 조직손상이나 감각이상(통증을 더욱 과민하게 느끼거나 정상적인 자극에도 통각으로 느끼게 되는 이상감각의 원인이 되기도 한다.

구강건조증은 다양한 원인으로 발생하는 구강질환들 가운데 하나이며, 연령의 증가와 함께 발생비율이 증가하는 추세이다. 특히 노인인구집단에서 호발되는 구강건조증은 노화에 동반되는 생리현상이지만 한편으로는 전신 질환으로 인한 타액 흐름을 방해하는 약물을 복용함으로써 발생하는 경우도 많다. 구강 내 타액은 자정작용과 윤활작용 등 다양한 역할을 담당할 뿐만 아니라 습윤한 조직상태를 유지하여 구강 내 감각을 유지해주는 역할을 하기도 한다. 그러므로 타액유출량의 변화는 구강감각의 변화를 초래할 수 있고, 광범위한 치아우식증, 구강점막이 감염에 쉽게 노출될 수도 있다. 흥미롭게도 최근 연구에 따르면 실험 동물에게 인위적으로 유발한 구강건조증은 급성 안면 통각을 더욱 향상시키는 원인이 된다는 보고가 있다[4]. 구강 내에서 타액은 저작과 소화에 필수적인 요소로 적용될 뿐만 아니라 발음과 미각인지 등의 구강기능에도 중요한 기여를 한다. 그러나 노인인구가 급증하는 현실점에 구강건조가 구강기능에 많은 영향을 미치는 것을 확인하기 위하여 구체적이고 체계적으로 연구된 결과가 거의 없으므로 노인의 구강 혹은 안면 통증감각에 대한 더 많은 연구가 필요한 실정이다. 본 연구에서는 구강건조증 유발을 위해 4-DAMP(4-Diphenylacetoxy-N-methyl-piperidine methiodide)를 실험동물의 복강 내로 투여하였고, 4-DAMP는 아세틸콜린과의 결합 과정에서 억제 작용을 통한 무스카린 M3 수용체의 강력한 길항제로 타액 분비를 감소시킴으로써 구강건조증을 유발할 수 있다[4].

임플란트는 최근 가장 보편적으로 시술하는 보철치료의 하나로써, 상실된 치아의 기능을 회복하기 위하여 인공치근을 치조골 내에 식립하고 저작기능을 담당하는 인공치관을 장착한다. 그러나 종종 인공치근을 식립하는 과정에서 하방을 수행하는 아래이틀신경의 손상에 의한 감각이상이 발생되기도 하며, 손상의 정도에 따라 수개월에서 수년에 걸쳐 회복되거나 영구히 감각을 회복하지 못하는 경우도 있다. 최근 발표한 한 등[5]의 연구에서는 인위적으로 하치조신경을 손상시키는 비정상적인 임플란트 식립에 의한 만성 신경병증성 통증 모델(malpositioning dental implant, MDI)을 개발하였고, 신경 손상 후 감각이상은 안면영역에 감각이상(과민통증)을 보여준다고 보고하였다.

본 연구에서는 앞서 언급한 구강건조증과 비정상적인 임플란트와 같은 임상적 의미를 가지는 동물모델을 활용하여 구강을

포함한 안면영역에서 두 가지 이상의 증상(통증)이 동반될 때 발생하는 감각이상(통증과민)의 변화를 확인하고자 하였고, 특히 통각의 표지자로 제시할 수 있는 c-fos 단백질이 연수후각의 층판 I, II에서 발현되는 양적 변화를 관찰하고자 하였다.

II. 연구방법

1. 실험동물과 수술

본 연구에 사용된 동물은 수컷 Sprague-Dawley 계 흰쥐(230-250g)를 사용하였고, 경북대학교 치과대학 동물실에서 12시간 주/야 빛 순환주기를 갖는 환경에서 실험동물용 사료와 물을 자유롭게 공급하여 사육하였다. 본 연구는 경북대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 얻었으며, 의식이 있는 동물의 실험에 관한 세계 통증연구학회의 윤리적 규정을 준수하였다.

2. 통증 실험모델

실험 동물을 ketamine (40mg/kg)와 xylazine (4mg/kg)으로 구성된 혼합 용액으로 마취한 뒤 선행연구에서 사용된 방법과 동일하게 수술을 하였다. 아래턱 좌측 제2대구치를 발거하고, 작게 만든 임플란트(직경 1mm, 길이 4mm, Megagen, Gyeongsan, Korea)를 인위적으로 아래이틀신경 손상이 야기되도록 식립하였다[5].

3. 안면통증 평가

안면통증행위반응을 평가하기 위하여 실험동물이 목을 빼내어 자유롭게 움직일 수 있도록 만들어진 투명한 플라스틱 관찰용 통에 한 마리씩 넣어 수행하였다. 동물실험은 밝지 않으면서 조용한 곳에서 최소 30분 이상 검사실 환경에 적응시켰다.

의도적으로 잘못 식립된 임플란트에 의해 유도되는 기계적 이질통증을 관찰하기 위해 공기자극 테스트(air-puff test)를 이용하였는데[5-8], 삼차신경이 지배하는 얼굴영역에 연속으로 10번의 공기자극(4초 동안의 지속시간, 10초의 간격)에 반응하여 머리를 회피하거나 깨우는 등의 공격적인 행동을 나타내는지 관찰하여 통증행위반사의 평가기준으로 삼았다. 공기자극은 금속관(26 gauge, 10cm)을 통해 피부로부터 1cm 떨어진 곳에서 90° 각도로 적용하였다. 공기자극 세기와 간격은 pneumatic pump module (Harvard Apparatus, Holiston, MA, USA)로 조절

하였다. 자극의 역치는 총 시도에서 50% 이상의 반응을 보인 경우로 평가하였으며[9],[10] 40psi 이상의 자극에서도 반응이 나타나지 않으면 자극을 중지하였다. 정상적인 동물은 40psi 이하의 압력에서는 어떠한 통증반응도 보이지 않았다. (행위반응에 대한 연구결과는 본 논문에서 제시되지 않았음. 통증 발생 시점에 조직적출을 위한 선행실험이므로 참고문헌의 연구방법에 따라 통증행위반응이 확인 후 조직적출을 위한 다음 연구를 수행하는 개체로 활용함)

4. 약물투여

본 연구에서는 구강건조증을 유발하기 위하여 4-DAMP (Sigma-Aldrich Co., ST Luis, USA)를 사용하였다. 4-DAMP 30mg/kg를 증류수에 용해시키고 복강 내에 1mL 용량으로 투여하여 타액선 손상을 유도하였다[4].

5. 조직 적출과 면역조직화학염색

신경병증성통증 모델 4일째 되는 날 안면부 통증을 평가하고 4-DAMP (30mg/kg)를 복강 투여하여 타액선 손상을 유발하고 24시간 경과 후 20% urethane (0.5mL/kg)을 복강 투여하여 마취하였다. 실험동물이 마취가 된 것을 확인한 다음 공기 압력 (10 sec on/off, 40 psi)을 10분간 적용하였다. 공기압력 적용 후 2시간이 지나고 실험동물을 0.9% 생리 식염수를 이용하여 심장관류 하였으며, 0.1M phosphates buffer (PB; pH7.4)에 용해시킨 4% paraformaldehyde로 고정하였다. trigeminal subnucleus dorsal horn을 적출하여 동일한 고정액으로 4°C에서 2시간 동안 후고정한 뒤 30% sucrose용액에 두어 4°C에서 15시간 이상 침투시켰다. 그 후 조직을 얼린 뒤, 박절기를 이용하여 30 μm 두께의 절편을 제작하고, normal horse serum blocking solution (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)에서 2시간 동안 상온에서 반응시켰다. 이 후 조직을 상온에서 뉴런 양성 마커인 rabbit c-fos(1:1,000, abcam, Cambridge, UK) 항체를 이용하여 18시간 반응시켰다. 이어서 anti-rabbit secondary antibody conjugated to peroxidase (ImmPRESS reagent kit, Vector Laboratories)를 이용하여 반응시킨 후, 3,3'-diaminobenzidine (DAB, Vector Laboratories)로 발색시켰다. 발색된 절편은 현미경(BX 41 and U-RFL-T, Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰하고 사진을 촬영

하였다. c-fos 면역 양성인 신경세포를 두 개의 섹션 superficial laminae (I - II)에서 계수하였다.

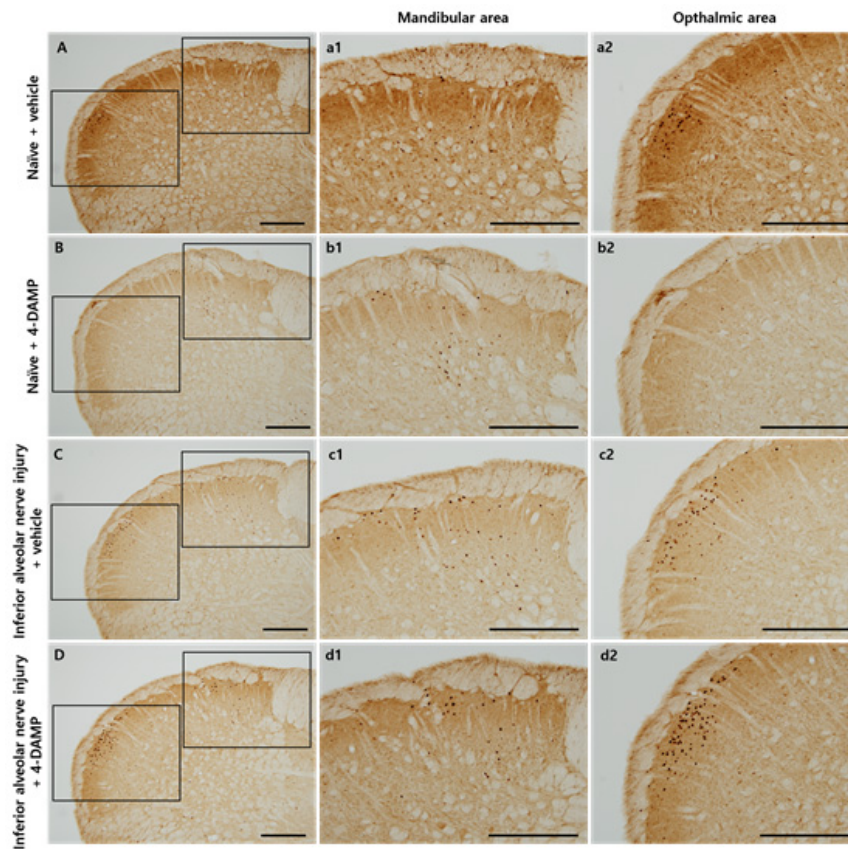
6. 통계분석

면역조직화학염색 결과의 통계분석은 반응의 유의성을 검증하기 위해 student t-test를 실시하였다. 통계적인 비교를 위해 통계적 유의성의 표준값은 $P < 0.05$ 로 설정하였다. 모든 결과는 평균 \pm 표준 오차(SEM)로 표시하였다.

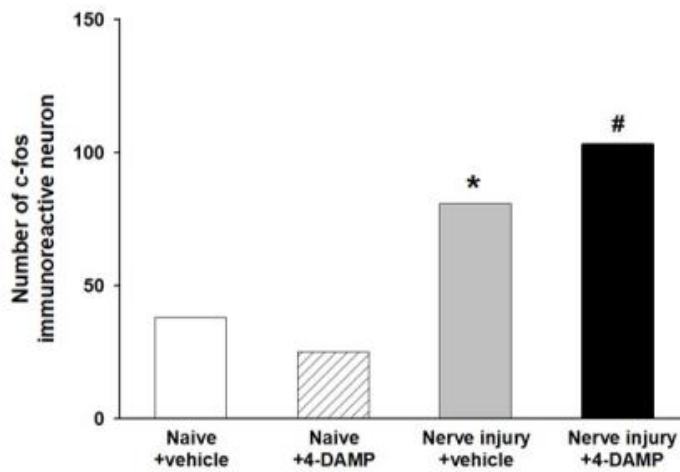
III. 연구결과

Figure 1은 vehicle 또는 약물 투여하고 24시간 후에 각 실험군의 면역조직화학염색방법을 이용하여 분석한 결과 trigeminal nucleus caudalis에서 c-fos 단백질의 발현을 나타내었다. 정상 쥐에게 vehicle을 주입한 군과 정상 쥐에게 약물 4-DAMP(30mg/kg)를 주입한 군의 c-fos 단백질 발현과 아래이틀신경 손상(MDI) 후 4일차에 통증이 발생한 것을 확인한 후 vehicle과 약물 4-DAMP를 주입하고 24시간 후 c-fos의 발현을 나타내었다. 신경활동 및 통증의 표지자인 c-fos 단백질의 발현은 아래턱(mandibular) 영역 (a1-d1)과 눈(ophthalmic) 영역 (a2-d2)을 함께 나타내었다. 정상 쥐에서의 c-fos 단백질 발현과 비교하여 아래이틀신경이 손상된 군에서 발현이 증가된 것을 관찰하였다. 또한 아래이틀신경 손상 후 vehicle을 투여한 군과 약물 4-DAMP(30mg/kg)를 투여한 군을 비교한 결과 약물 투여한 군의 c-fos 단백질 발현이 증가된 것을 관찰할 수 있다.

Figure 2는 Figure 1의 c-fos 단백질 발현량의 수치를 평균하여 그래프로 나타낸 것이다. 정상 쥐에 vehicle을 투여한 군에서는 38개가 발현되었고 정상 쥐에 약물 4-DAMP(30mg/kg)를 투여한 군은 25개가 발현되었다. 아래이틀신경 손상된 쥐에게 vehicle을 투여한 군은 81개가 발현되었고 아래이틀신경 손상된 쥐에게 약물 4-DAMP(30mg/kg)를 투여한 군은 103개가 발현되었다. 신경손상된 쥐에게 vehicle을 투여한 군의 c-fos 단백질 발현이 정상 쥐에 vehicle을 투여한 군에 비해 유의하게 증가되는 것을 관찰하였다. 신경손상된 쥐에게 약물 4-DAMP를 투여한 군이 vehicle을 투여한 군에 비해 c-fos의 단백질 발현이 유의하게 증가하였다($P < 0.05$).



<Figure 1> Expression of c-fos in naive+vehicle (A), naive+4-DAMP (30mg/kg) (B), nerve injury+vehicle (C) and nerve injury+4-DAMP (D) in the trigeminal nucleus caudalis. (A-D) : Scale bars, 100 μ m. (a1-d1, a2-d2) : Scale bars, 200 μ m.



<Figure 2> Histogram showing the number of c-fos immunoreactive neurons in the trigeminal nucleus caudalis. *P<0.05, naive+vehicle vs. nerve injury+vehicle. #P<0.05, nerve injury+vehicle vs. nerve injury+4-DAMP.

IV. 고찰

안면부 통증은 인구의 70%가 생애 한 번 이상 경험할 수 있는 질환으로 외상이나 침습적인 치과치료와 같은 다양한 상황에 의해 치아와 치주조직 또는 삼차신경의 손상으로 야기될 수 있다[11]. 아래이틀신경 전달 마취, 제3대구치의 수술적 발거, 근관치료 및 임플란트 수술 등의 조직손상이나 미세외상으로 인하여 구강안면통증이 야기된다고 보고된 바 있다[12].

그리고 이러한 감각이상도 복합적으로 발생되기도 하며, 감각 이상의 변화를 초래하는 경우도 있다. 예를 들어 뜨거운 음식섭취로 인해 구강연조직의 손상이 발생된 부위는 통각이 발생하게 되며 동일 부위에 비유해한 자극인 물이나 음식이 닿으면 더욱 크게 통각을 느끼는 통각과민(hyperalgesia) 증상이 나타날 수 있다[13]. 본 연구에서는 치과 임상에서 흔하게 발생할 수 있는 잘못된 위치로 식립된 임플란트로 인한 삼차신경에 기계적 이질통의 발생을 확인하였으며 대조군에 비하여 유해하지 않은 자극에 민감하게 반응하는 것으로 확인되었다. 원[14]의 연구에 의하면 신경병증성 통증이 있는 실험동물에서 신경아교세포 뉴런의 GRK2 경로가 신경 손상 후 신경교세포에서 방출되는 IL-1 β 를 통해 삼차신경병증성 통증의 발생에 관여한다는 결과를 보였으며 이는 중추 및 말초신경 통증 경로에서 삼차신경부위의 경로를 확인할 수 있었다.

구강건조증은 급성이 아닌 만성 형태로 지속되는 구강질환으로 타액의 양이 감소하여 구강 연조직의 감각 이상이 동반되는 것으로 알려져 있다. 이러한 구강건조증은 구강조직 또는 신경 손상으로 발생한 통증의 크기를 향상시키는 원인이 될 수 있으며, 최근 연구에서는 구강건조증을 유발시킨 실험모델에서 급성통증행위반응이 증가되었고, 이러한 통증은 계피추출물에 의해 유의하게 감소한다는 연구 결과가 보고되었다[4]. 또한 구강 안면부 통증을 호소하는 환자일수록 구강건조증상에 대해 더 민감하게 불편감을 호소한다는 Silva 등의 연구[15] 결과를 토대로 구강건조증과 안면부 통증은 높은 상관 관계가 있는 것으로 해석된다. 본 연구에서도 구강건조증이 유발된 실험군에서 통증에 대한 민감성이 더욱 증가하였으며, 안면부 통증 및 구강건조증이 함께 적용된 실험군에서는 더욱 많은 통증행위반응을 나타내었다. 이는 구강건조증 증상이 안면부 통증반응에서 높은 원인인자인 것을 유추할 수 있었다.

통증의 양상의 변화와 유해감각의 크기 및 조절을 확인하는 방법으로 사용되는 c-fos 단백질은 세포 주기 유전자로 면역조직화학법을 통해 관찰하는 방법으로 사용되고 있다[16]. c-fos 단백

질은 직속초기유전자군에 속하는 세포성 원암유전자로 다양한 유형의 뇌 손상이 발생했을 때 뇌의 신경 활동에 대한 상대적 표지자로 많이 이용되고 있으며, 그 중 척수에서의 c-fos 단백질의 발현은 반복적인 통각 자극 및 스트레스에 따라 검출되는 신경 독성 표지자로 간주될 수 있다[17]. 반복적인 저온 스트레스 자극을 준 실험동물에서 통각 행동 과민성이 관찰되었고 척수 후각 뉴런에서 c-fos 양성 뉴런의 수가 유의하게 증가한 연구 결과를 보였다[18]. 또한 흰 족제비의 치수에 박테리아 지질다당류(LPS)로 유발된 치수 염증으로 삼차신경 c-fos 양성 뉴런의 수가 증가하였으며 삼차신경 꼬리핵하 및 전이영역에서 더 깊은 부위에 발현한 연구 결과가 있었다[19]. c-fos 단백질에 대한 연구는 주로 유해 자극에 의한 반응으로 c-fos 단백질의 발현 양상을 살펴보고 있다. 유해 자극은 척수 또는 삼차신경척수액에 있는 유해성 신경원으로 A-델타신경세포 또는 C-신경섬유와 같은 일차 구심섬유에 전달된다. 유해 자극 후 c-fos 단백질이 발현되는 신경원의 분포는 척수 후각에서 일정한 형태가 나타나며, 척수 신경세포들은 주로 척수 후각의 층판 I, II에 발현된다고 알려져 있다[20]. 유해 자극 이후 통증의 크기가 증가함에 따라 척수 후각 층판 I, II에서 c-fos 단백질 신경세포 수 발현량이 증가한 연구[21]와 본 연구결과와 일치하는 것으로 보여지며, 구강건조증과 MDI에 의해 발생한 만성통증이 동반될 때 통증이 증가하고 이에 따라 c-fos 단백질 발현량이 유의하게 증가한 것을 확인할 수 있었다.

이러한 결과는 안면부에 발생한 질환 혹은 손상은 동반될 때 감각이상의 향상을 초래할 수 있다는 것을 의미하며, 노화와 함께 생리적 변화로 나타나는 타액량 감소는 구강 내 감각이상의 변화를 야기하는 원인이 될 수 있음을 시사한다. 따라서, 연령이 증가하고 구강기능이 감소하는 노인인구집단을 대상으로 건강한 구강을 유지하기 위하여 구강기능향상을 위한 프로그램을 개발하는 등 지속적인 노력이 필요하다고 사료된다.

V. 결론

본 연구에서는 임상적 의의를 가지는 동물모델을 활용하여 구강건조증에 의한 안면부 만성 신경병증성 통증의 향상을 확인하고자 하였으며, 통증 표지자로서 c-fos 단백질이 연수후각의 층판 I, II에서 발현되는 양적 변화를 관찰하였다.

본 연구를 통해 확보한 결과는 다음과 같다.

1. 4-DAMP를 복강 내로 주입하면 구강건조증이 유발된다.

2. 인위적으로 비정상적인 위치에 식립한 임플란트는 아랫이틀신경을 손상시켜 만성 신경병증성 통증을 유발한다.
3. 아랫이틀신경손상 후 4일 째 구강건조증을 유발하면 통증항상이 발생되고, 같은 시점에 연수후각 총판 I, II에서 c- fos 단백질의 발현량이 유의하게 증가하였다.

이상의 결과를 종합하여, 만성 신경병증성 통증과 구강건조증이 동반될 때 통증항상이 발생하는 것을 확인할 수 있고 구강을 포함하는 안면영역에서 두 가지 이상의 증상은 감각이상을 초래할 수 있다는 것을 확인하였다.

REFERENCES

1. National dental school (graduate school) physiology faculty consultation: Physiology for Dentistry. 3th. Seoul, Daehan Narae Publishing Company, p379-104, 2016.
2. Badral B: The effects of pain-specific local anesthetics (QX-314 and capsaicin cocktail) on brainstem neuronal activity following tooth extraction. doctoral dissertation, Seoul National University, Seoul, 2014.
3. Hunt SP, Pini A, Evan G: Induction of c-fos like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation. *Nature* 328(6131):632-634, 1987.
DOI: 10.1038/328632a0
4. Choi JH, Nam SH, Lee MK: Efficacy of combined administration of cinnamon and curcumin on acute orofacial inflammatory pain enhanced by xerostomia. *Journal of Korean Society of Oral Health Science* 9(4):40-46, 2021.
DOI: 10.33615/jkohns.2021.9.4.40
5. Han SR, Yeo SP, Lee MK, Bae YC, Ahn DK: Early dexamethasone relieves trigeminal neuropathic pain. *Journal of Dental Research*. 89(9):915-920, 2010.
DOI: 10.1177/0022034510374056
6. Han SR, Yang GY, Ahn MH, et al.: Blockade of microglial activation reduces mechanical allodynia in rats with compression of the trigeminal ganglion. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 36(1):52-59, 2012.
DOI: 10.1016/j.pnpbp.2011.10.007
7. Jeon HJ, Han SR, Park MK, Yang KY, Bae YC, Ahn DK. A novel trigeminal neuropathic pain model: compression of the trigeminal nerve root produces prolonged nociception in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 38(2):149-158, 2012.
DOI: 10.1016/j.pnpbp.2012.03.002
8. Kim MJ, Lee SY, Yang KY, et al.: Differential regulation of peripheral IL-1 β -induced mechanical allodynia and thermal hyperalgesia in rats. *The Journal of Pain* 15(4): 23-732, 2014. DOI: 10.1016/j.pain.2013.12.030
9. Jung CY, Choi HS, Ju JS, et al.: Central metabotropic glutamate receptors differentially participate in interleukin-beta-induced mechanical allodynia in the orofacial area of conscious rats. *The Journal of Pain* 7(10):747-756, 2006.
10. Yang CS, Jung CY, Ju JS, Lee MK, Ahn DK: Intracisternal administration of itogen-activated protein kinase inhibitors reduced IL-1beta-induced mirror-image mechanical allodynia in the orofacial area of rats. *Neuroscience Letters* 387(1): 2-37, 2005.
DOI: 10.1016/j.neulet.2005.07.019
11. Ahn DK, Park MK: Animal models for orofacial neuropathic pain. *Hanyang Medical Reviews* 31(2):107-115, 2011.
DOI: 10.7599/hmr.2011.31.2.107
12. Kang DW, Kim YK: Evaluation of the treatment and prognosis of the patients with orofacial pain of unknown cause. *Oral Biology Research* 42(2): 67-72, 2018.
DOI: 10.21851/obr.42.02.201806.67
13. Kim SH, Jeon YH, Hong JP: Review of the mechanisms related with central excitatory effects of orofacial pain. *Journal of Oral Medicine and Pain* 27(1):29-36, 2002.
14. Won KA, Kim MJ, Yang KY, et al.: The glial-neuronal GRK2 pathway participates in the development of trigeminal neuropathic pain in rats. *The Journal of Pain* 15(3):250-261, 2014.
DOI: 10.1016/j.jpain.2013.10.013.
15. Silva LA, Teixeira MJ, Siqueira JTT, Siqueira SRDT: Xerostomia and salivary flow in patients with orofacial pain compared with controls. *Archives of Oral Biology* 56(10):1142-1147, 2011.
16. Hunt SP, Pini A, Evan G: Induction of c-fos like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation. *Nature* 328(6131):632-634, 1987.
DOI: 10.1038/328632a0
17. Quintero L, Cuesta MC, Silva JA, et al: Repeated swim stress increases pain-induced expression of c-Fos in the rat lumbar cord. *Brain Research* 965(1-2):259-268, 2003.
DOI: 10.1016/s0006-8993(02)04224-5
18. Nasu T, Kainuma R, Ota H, Mizumura K, Taguchi T:

- Increased nociceptive behaviors and spinal c-Fos expression in the formalin test in a rat repeated cold stress model. *Neuroscience Research* 29:S0168-0102(23)00134-7, 2023. DOI: 10.1016/j.neures.2023.06.010
19. Chattipakorn SC, Sigurdsson A, Light AR, Narhi M, Maixner W: Trigeminal c-Fos expression and behavioral responses to pulpal inflammation in ferrets. *Pain* 99(1):61-69, 2002. DOI: 10.1016/S0304-3959(02)00054-4
20. Presley RW, Menetrey D, Levine JD, Basbaum AI: Systemic morphine suppresses noxious stimulus-evoked Fos protein like immunoreactivity in the rat spinal cord. *The Journal of Neuroscience* 10(1):323-335, 1990. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.10-01-00323.1990
21. Kim GY, Jeong HW: Effects of microcurrent stimulation on c-fos and calcitonin gene-related peptide expression in the spinal cord on rats induced pain. *Journal of Physiology & Pathology in Korean Medicine* 19(1):75-80, 2005.