신경결찰손상 쥐에서 항이질통에 대한 Morphine과 Adenosine 수용체 작용제의 상호작용

울산대학교 의과대학 마취과학교실

이정락 · 김영국 · 최대기 · 박종연 · 광미정 · 황재현

= Abstract =

The Interaction of Morphine and Adenosine Receptor Agonists on Antiallodynia in Rats with a Nerve Ligation Injury

Jung Rak Lee, M.D., Young Kook Kim, M.D., Dae Ki Choi, M.D., Jong Yeon Park, M.D.
Mi Jung Kwak, M.D., and Jai Hyun Hwang, M.D.

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

Background: A Nerve ligation injury may produce a pain syndrome that includes tactile allodynia. Reversal effects on tactile allodynia have been demonstrated after an intrathecal administration of adenosine analogues or morphine. Adenosine receptor agonists have been known to have antinociceptive and antiallodynic effects in many animal and human studies. We examined the drug interactions between morphine and adenosine agonists in a rat model of a nerve ligation injury.

Methods: Male Sprague Dawley rats were prepared with a tight ligation of the left lumbar 5 th and 6 th spinal nerves and chronic lumbar intrathecal catheter implantation for drug administration. We measured the tactile allodynia by applying von Frey filaments ipsilateral to the lesioned hindpaw. Thresholds for paw withdrawal were assessed. Morphine (1-30 μ g), adenosine (1-30 μ g) and R-PIA (0.1-10 μ g) were administered to obtain the dose-response curves and the 50% effective dose (ED₅₀). Fractions of ED₅₀ values were administered to establish the ED₅₀ of drug combinations. Drug interactions were evaluated by the fractional and isobolographic analyses. Allodynic thresholds for left lesioned hindpaw withdrawal to the von Frey hairs test were assessed and converted to % maximal possible effect (%MPE).

Results: The antiallodynic effect of morphine, adenosine, and R-PIA were produced in a dose dependent manner. The antiallodynic effects of combinations showed a similar pattern. Isobolographic analysis revealed a synergistic interaction for the morphine-R-PIA combination but not for the morphine-adenosine combination. However, fractional analysis produced a synergistic result for two combination groups.

Conclusions: The results demonstrated that intrathecal co-administration of adenosine A1 receptors agonist and morphine showed the synergistic effect on nerve ligation injury induced allodynia. (Korean J Anesthesiol 2002; 42: 823~830)

Key Words: Adenosine; allodynia; drug interaction; intrathecal injection; morphine; R-PIA.

논문접수일 : 2002년 2월 15일

책임저자 : 황재현, 서울시 송파구 풍납동 388-1, 울산대학교 의과대학 서울아산병원 마취과, 우편번호: 138-736

Tel: 02-3010-3868, Fax: 02-470-1363, E-mail: jhhwang@amc.seoul.kr

상기 논문은 2001년도 아산생명과학연구소의 연구비지원에 의한 것임.

서 론

말초신경 손상 후 유발되는 신경병증성 통증은 통각과민과 이질통 등의 증상을 보이며 교감신경 절제술에 의해서 통증이 감소하므로 교감신경계가 일부 관여한다는 보고가 있다.¹⁾ 그리고 여러 신경손상 모델 쥐에서 척수신경절찰 시 접촉유발성 이질통은 가장 잘 나타난다고 한다.²⁾

Adenosine은 말초부와 중추신경계에서 다양한 조울작용을 하는 체내 생성물질로 adenosine 수용체 활성이 되면 신경전달물질들의 분비가 일부 조절되어 질 수 있다.^{3,4)} 척수에서는 척수후각의 내재성 신경세포(intrinsic neurons)에 주로 adenosine A1 및 A2 수용체가 분포하며^{5,7)} adenosine과 adenosine 유사물질들(analogues)이 급성통증의 동물모델에서 침해반응뿐 아니라 척수후각의 신경학적 반응들도 억제한다.^{3,4,8,9)} 한편 신경손상 후 유발되는 신경병증성 통증의 동물모델에서 척수강내로 투여된 adenosine 수용체 작용제가 통증반응을 감소시켰다는 보고가 있다.¹⁰⁻¹²⁾ 더욱이 glutamate와 substance P와 같은 흥분성 신경전달물질들의 분비가 척수부의 adenosine에 의해 억제된다는 연구보고도 있다.¹³⁾ 또한, 전신적 혹은 척수강내로 투여된 adenosine이 말초신경손상 환자에서 신경병증성 통증을 경감시키거나 수술 후 진통제 요구량 및 수술 중 마취제 요구량을 감소시켰으며, adenosine A1 수용체 작용제인 N⁶-(2-phenylisopropyl)-adenosine R(-)-isomer [R-PIA]는 이러한 통증을 장시간 완화시켰다고 하였다.^{8,11,14)}

신경병증성 통증 기전에 대한 임상연구에서 adenosine 수용체 작용제를 이용한 침해 및 이질통 억제작용에 대한 보고가 있으며, 최근에는 통증조절에서 adenosine 수용체 작용제를 적용하여 좋은 효과를 보았다는 임상보고들이 있다.^{15,16)} 그리고 논란의 여지가 있지만 신경병증성 통증 모델에서 morphine은 항이질통 효과가 있다고 하며,^{17,18)} R-PIA도 항이질통 효과가 있다고 한다.^{8,10-12)}

약제들의 혼합투여는 흔히 각 투약제들의 부작용과 내성을 감소시키면서 제통효과를 향상시킨다고 하여 임상에서 널리 사용되고 있다.

따라서 이 실험에서는 이질통 유발 쥐를 대상으로 행동학적인 방법을 통하여 adenosine 수용체 작용제

를 morphine과 척수강내로 혼합투여한 후 접촉성 자극 시 항이질통 효과에 대한 상호작용을 관찰하고자 하였다.

대상 및 방법

실험동물로 몸무게 160-180 g의 수컷 흰쥐(Sprague Dawley)를 사용하여 물과 먹이를 자유롭게 취할 수 있는 상자에 넣어 사육실에서 최소한 3일 이상 주위환경에 적응시키며 12시간(오전 6:00-오후 6:00)의 광주기성을 유지시켰다. 통증반응을 관찰하는 모든 실험은 일주기리듬(circadian rhythm)에 의한 오차를 줄이기 위해 오전 9시-오후 4시 사이의 일정한 시간대에 시행하였다.

신경병증성 통증모델의 제작은 100% 산소와 4 vol% 엔플루란이 분당 3리터로 흐르는 마취유도상자에 실험쥐를 넣은 후 움직임이 없어지면 쥐를 꺼내 마스크를 씌우고 엔플루란 2-3 vol%로 하여 자발호흡을 유지시키면서 마취상태를 유지한다. 제4요추부에서 제3천추부까지 배부피부를 정중절개하고 등근육을 분리시킨다. 현미경하에서 좌측 제6요추부 횡돌기와 천추부가 잘 노출되도록 한 후 제6요추부 횡돌기 일부를 제거하고 비스듬히 외하부로 함께 진행하는 제4, 5요부 척수신경을 찾아 유리봉으로 조심스럽게 분리한 후 제5요부척수신경을 6-0 black silk로 두 번에 걸쳐 결찰하였다. 또한 같은 방법으로 천추부 상단부 장골능 직하방에서 제6요부 척수신경을 결찰하였다. 수술부위는 지혈 확인 후 4-0 vicryl로 2단계 봉합하였고 복강내로 5 ml의 생리식염수를 주사하였다. 수술 후 7일째까지 이질통 유무를 검사하여 역치가 4.0 g 이상일 경우는 실험에서 제외시켰다.

척수강내 약물투여를 위해 카테터거치술을 시행하였는데 마스크를 씌우고 100% 산소에 엔플루란 3 vol%로 하여 자발호흡을 유지시키는 마취상태에서 실험쥐를 stereotaxic ear bar에 고정시키고 후두경부 정중선에서 절개하고 근육을 분리한 후 경막을 주사침으로 뚫어 척수액이 나오는지 확인하고 길이 8.5 cm의 PE-10 튜브를 요부확장부인 제12흉추-제1요추부위에 카테터의 끝이 위치하도록 하였다.

항이질통 관찰실험은 요부척수 신경절찰술과 카테터거치술을 시행한 후,^{19,20)} 쥐가 마취에서 회복되면

보행자세, 척추의 기형, 환부측 다리의 구부림 등을 관찰하여 운동손상의 증후가 보이면 실험에서 제외시켰으며 7일이 경과한 뒤 몸무게가 수술전과 비슷해지면 실험을 시행하였는데 동일 쥐에서 3-4회의 실험을 시행하되 잔여효과의 영향을 없애기 위해 최소 3일 이상의 간격을 두고 실험하였다.

항이질통에 대한 행동관찰실험은 쥐를 잘 관찰할 수 있는 바닥이 가늘고 촘촘한 철망으로 만들어진 플라스틱 실험상자에 넣고 15분 이상 적응시킨 뒤, 쥐의 움직임 등이 조용해지면 8개의 연속된 굽기의 von Frey hairs (Stoelting Woodale, USA)를 사용하여 연속적인 반응을 평가하는 up-down method를 사용하는데, hairs를 좌측 환부 발바닥에 수직으로 접촉시키고 5-6초간 유지시켜 쥐가 신속한 회피반응을 보이지거나 또는 발바닥에서 hair를 땔때 즉시 움찔하거나 발바닥을 핥으면 양성반응을 보인 것으로 간주하였다.²¹⁾ 이렇게 측정된 역치가 4.0 g 미만인 쥐들만을 대상으로 하였고 약물투여 전에 측정된 수치를 기준으로 하였다. 약물투여 후 각 약물의 작용을 고려하여 15, 30, 45, 60, 90, 120 및 180분에 기계적 이질통의 역치를 측정하였다. 약물의 투여용량과 투여시키는 예비실험의 결과와 경험을 토대로 하여 정하였다.

실험구성은 첫 번째로 신경결찰 쥐에서 morphine, adenosine, 혹은 R-PIA를 투여한 후 가벼운 접촉성 자극에 대한 기계적 항이질통 효과를 확인하고 각 약제의 potency ED_{50} 를 구하였다. 그 후 각 약제들의 ED_{50} 의 1/2, 1/4, 1/8, 1/16에 해당하는 분할용량을 동량씩 혼합하여 척수강내로 투여하고 혼합투여한 경우에서 각 혼합약제의 ED_{50} 를 구하였다. 두 번째로 단독투여와 혼합투여 시의 약물상호작용은 ED_{50} 와 신뢰도 구간을 이용하여 두 약제간 상호작용의 유형을 분율분석(fractional analysis)과 isobolographic analysis를 이용하였다.

투여약물의 ED_{50} 를 구하기 위해 morphine sulfate (MW = 668.76; RBI, USA)는 1, 3, 10, 30 μ g; adenosine (MW = 267.24; RBI, USA)은 1, 3, 10, 30 μ g; 그리고 N^6 -(2-phenylisopropyl)-adenosine R(-)-isomer [R-PIA] (MW = 385.4; RBI, USA) 0.1, 0.3, 1, 3, 10 μ g을 이질통의 역치를 측정하기 5분 전에 척수강내로 투여하였다. 투여약제는 모두 생리식염수에 용해시켰다. 척수강내로 투여하는 경우에서 10 μ l 용량에

각 농도의 약제들을 만들어 카테터에 연결한 Hamilton 주사기(Hamilton Co., USA)로 주입하였고 뒤이어 동량의 생리식염수를 주사하였다. 약물주입과 측정 실험자가 결과에 대한 영향을 주지 않도록 맹검적으로 실시하였다.

투약효과는 각 군에서 최대효과 %MPE (maximal possible effect)를 다음의 공식을 이용하여 구하였다. 항이질통 효과에 대한 %MPE = (투약 후 역치 - 투약 전 역치) $\times$ 100 / (15 g-투약 전 역치)

두 약물간의 상호작용을 평가하기 위해 Tallarida와 Murray의 방법을 사용하였으며,²²⁾ 혼합투여 시의 이론적 부가치는 두 약물간의 혼합투여 시에 구한 실험 데이터를 Tallarida 등이²³⁾ 소개한 방법을 program화한 worksheet을 이용하여 구하였다.

Isobolographic analysis에서 실험치는 이론적인 부가적 대각선을 기준으로 대각선상에 위치하는 이론적 부가치와 비교하며,^{22,23)} 분율분석(fractional analysis)에서는 약물상호작용의 성질과 정도를 분석하기 위해 각 약제의 fraction을 구한 후 합계를 구하였다.²⁴⁾

두 약제간의 통계분석은 Tallarida와 Murray의 방법을 이용하였고,²³⁾ 용량반응 데이터는 각 약제의 최대효과(%MPE 평균 $\pm$ SEM)를 도표로 그렸다. 이론적 ED_{50} 의 변이도(variance)와 95% 신뢰도 구간은 단독투여 시의 변이도로부터 계산하였다.²⁴⁾ 실험치와 이론적 부가치 사이의 차이는 가로 혹은 세로축에 대해서 Student's t-test를 이용하여 구하였으며 P 값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 의미있는 것으로 간주하였다. 모든 데이터는 평균 $\pm$ 표준오차로 나타내었다.

결 과

각 군의 모든 실험에서 쥐에서 실험에 지장을 주는 운동장애나 심한 진정작용을 보이지 않았다.

Morphine과 adenosine 수용체 작용제인 adenosine 혹은 R-PIA는 각 투여용량에 비례하여 용량 의존적으로 항이질통 반응을 나타내었다(Fig. 1). 각 농도별로 차이는 있었지만 척수강내 투여 15-30분 후 최대효과를 나타내었고 이후 시간경과에 따라 서서히 감소하여 3시간 이후에는 거의 기준치수준으로 회복되었다. 시간경과에 따른 변화의 양상은 각 약제들

에서 유사하였다. 혼합투여의 경우도 단독투여의 양상과 대체로 유사하였다.

각 약제의 단독투여와 혼합투여 시의 ED_{50} (신뢰도 구간)와 기울기(신뢰도 구간)는 다음과 같았다. Morphine ($n = 24$)은 $12\mu\text{g}$ (6.59-22.03 μg)와 31.4 (19.4-43.4), adenosine ($n = 42$)은 $19.26\mu\text{g}$ (1.88-197.18 μg)와 19.63 (5.15-34.1), R-PIA ($n = 38$)는 $0.92\mu\text{g}$ (0.47-1.78 μg)와 32.07 (18.7-45.44)이었다. Morphine-adenosine ($n = 46$)은 $6.06\mu\text{g}$ (4.31-8.51 μg)와 66.36 (37.46-95.26), morphine-R-PIA ($n = 48$)는

$3.34\mu\text{g}$ (2.27-5.87 μg)와 49.83 (24.19-75.46)이었다.

R-PIA가 adenosine 혹은 morphine에 비해 용량반응 곡선이 전체적으로 왼쪽으로 이동하여 있는 것으로 보아 같은 투여량 기준으로 보아 R-PIA의 억제효과가 더 높게 나타남을 보였다(Fig. 1).

Morphine과 adenosine 혼합투여 시 실험치의 ED_{50} ($\pm$ 표준오차)는 각각 morphine 2.33 (± 0.4 ; $n = 24$) μg 와 adenosine 3.73 (± 0.64 ; $n = 42$) μg 이었고, mor-

Fig. 1. Dose-response curves from the peak effect of percent maximal possible effect (%MPE) for the antiallodynia in each dose group. Data were expressed as mean $\pm$ SE. Doses (μg) are represented logarithmically on the x axis and % MPE is represented on the y axis. Mor: morphine, Ade: adenosine.

Fig. 2. Isobologram for the interaction of morphine and adenosine when coadministered intrathecally in an equal dose ratio. The diagonal line connecting two 50% effective dose (ED_{50}) points is the theoretical additive line. The ED_{50} point A ($\pm$ SE) is calculated from the ED_{50} values and 95% confidence intervals of each drug. The experimental ED_{50} point B is decreased significantly below the line of additivity but SE overlaps, indicating an additive effect.

Table 1. ED_{50} s (μg) and Their 95% Confidence Intervals (or SEM) for Intrathecally Administered Morphine, Adenosine, R-PIA and Their Combinations

Agent	Morphine (Mor)		Adenosine (Ade)		R-PIA (PIA)		Sum of ED_{50} fractions
	Fraction of ED_{50}	Intrathecal dose (μg)	Fraction of ED_{50}	Intrathecal dose (μg)	Fraction of ED_{50}	Intrathecal dose (μg)	
Mor ($n = 24$)	1.00	12 (6.59-22.03)	-	-	-	-	1.00
Ade ($n = 42$)	-	-	1.00	19.26 (1.88-197.2)	-	-	1.00
PIA ($n = 38$)	-	-	-	-	1.00	0.92 (0.47-1.78)	1.00
Mor + Ade ($n = 46$)	0.19	2.33 (± 0.4)	0.19	3.73 (± 0.64)	-	-	0.38
Mor + PIA ($n = 48$)	0.26	3.1 (± 0.77)	-	-	0.25	0.23 (± 0.06)	0.51

Fig. 3. Isobologram for the interaction of morphine and R-PIA when coadministered intrathecally in an equal dose ratio. The diagonal line connecting two 50% effective dose (ED_{50}) points is the theoretical additive line. The ED_{50} point A ($\pm$ SE) is calculated from the ED_{50} values and 95% confidence intervals of each drug. The experimental ED_{50} point B is decreased significantly below the line of additivity, indicating synergistic effect.

phine과 R-PIA 병용투여 시 실험치의 ED_{50} 는 morphine 3.1 ($\pm$ 0.77; $n = 48$) μ g과 R-PIA 0.23 ($\pm$ 0.06; $n = 48$) μ g이었다.

Morphine과 adenosine 혼합투여 시는 비록 isobologram에서는 실험치가 이론적 ED_{50} 값보다 좌측아래에 위치하지만 신뢰구간이 중복되었다(Fig. 2). 따라서 상승적인 효과가 있다고 의미를 부여하기는 힘들다. 하지만 분율분석상에서는 두 혼합투여군 모두에서 상승효과가 있는 것으로 나타났다(Table 1). 반면 Fig. 3에서 morphine과 R-PIA 혼합투여 시 실험치가 이론적 계산치보다 왼쪽 아래부위에 위치하여 의미 있는 상승적 효과를 나타내었다($P < 0.05$).

고 찰

아데노신 수용체는 크게 A1 수용체와 A2 수용체가 존재하며 주로 척수후각의 사이신경세포(interneuron)에 분포한다고 한다. 또한 운동신경이 주로 분포하는 척수 전각에도 일부 분포하지만 이번 실험에 사용한 용량에서는 운동장애를 초래하지 않는다고 한다. Choca 등은⁵⁾ ligand binding assay로 쥐의 척수막에서 adenosine 수용체가 adenylylate cyclase 활성을

조율하며, A1과 A2 수용체가 존재함을 직접 확인하였으며, 이들 A1과 A2 수용체아형들이 척수후각에서는 매우 적은 부위에 집중적으로 존재하며 척수전각에서는 전반적으로 퍼져 존재한다고 보고하였다. 따라서 이들 수용체들은 쥐의 척수에서 전체 adenylylate cyclase의 단지 일부하고만 결합되어질 수 있다고 하였다.⁵⁾ 또한 autoradiographic study에서 교양질(substantia gelatinosa)에 존재하는 adenosine A1과 A2 수용체는 주로 내재성 신경섬유(intrinsic neuron)에 분포한다고 하였다.⁶⁾ A1 수용체는 autoradiographic study와 binding study에서 척수후각에 존재한다고 하며, 일차 구심성 섬유 말단부나 척수상부로 부터의 하행성 통로에 대해 전연접(presynaptic)부에 존재하지 않고 척수의 사이신경에 존재하는 것 같다고 보고하였다.⁷⁾

이번 실험에서는 척수신경절찰 후 유발된 이질통 쥐에서 adenosine과 A1 수용체에 비교적 선택적으로 작용하는 R-PIA를 척수강내로 투여하여 항이질통 효과를 확인하였으며 체내투여 시 adenosine 분비를 유도하는 morphine과의 병용투여 시 상호작용을 관찰하였다. A2 수용체 작용제는 운동장애를 초래하기 때문에 이번 실험에서는 A1 수용체 작용제인 R-PIA만을 선택하였다.¹⁰⁾

R-PIA는 A1 수용체에 비교적 선택적으로 작용하지만 용량이 많아지면 수용체아형에 대한 선택성이 소실된다고 하나⁸⁾ 이번 실험에서 사용한 용량이나 대부분의 실험에서 항치해작용을 나타내는 용량 즉 3-30 μ g에서는 A1 수용체에 대한 선택성을 잘 유지한다고 한다. Lee와 Yaksh는¹⁰⁾ R-PIA가 0.3 μ g에서 이질통을 억제하였지만 ED_{50} 용량 11.6 μ g에서는 운동장애를 초래하였다고 보고하였는데, 이번 실험에서도 저자들은 ED_{50} 용량 0.92 μ g에서 이질통을 억제하였고 사용한 모든 투여용량에서 운동장애는 나타나지 않는 것을 관찰하였다.

Heijne 등은²⁵⁾ 척수신경 손상 쥐에서 척수강내 투여 adenosine은 3-50 μ g은 이질통을 감소시키지 못하였지만 R-PIA 3.8 μ g에서 현저하게 이질통을 감소시켰다고 보고하였는데, 이는 외부에서 투여한 adenosine이 약동학적 그리고 약역학적 이유로 A1 수용체에 대한 adenosine의 친화도와 선택성이 감소되었기 때문이라고 설명하였다. 이번 실험에서도 이들 두 adenosine 수용체 작용제들의 용량반응곡선의 기

울기가 평행하지 않은 것은 각기 다른 기전에 의해 작용때문이라고 추측할 수 있다.

Heijne 등은¹¹⁾ R-PIA는 기계적 자극에 대한 이질통을 경감시키며 장기간 투여 시는 열성 이질통에 대한 내성이 생길 수 있으나 이때 척수강내로 morphine을 투여하면 이질통을 감소시킬 수 있다고 하였고, 따라서 R-PIA의 항이질통 효과는 morphine에 의한 항이질통 효과의 기전과 무관하게 작용한다고 보고하였다. 결국 이번 실험에서 morphine-R-PIA의 상승작용도 서로 다른 기전의 작용에 의한 것임을 유추할 수 있다.

Morphine은 substance P와 NMDA에 의한 감각신경통로의 후연접부의 활성화를 억제하고 A1과 A2 수용체 작용제가 이런 효과를 나타내게 되며, 게다가 adenosine 수용체가 주로 분포하는 척수내의 내재성 신경세포에 대한 adenosine의 부가적인 작용도 있다고 한다.¹³⁾ Substance P는 척수로부터 morphine의 척수강내 투여에 의해 직접적으로 adenosine을 분비시키고 증강시키는 작용을 한다는 보고도 있다.²⁶⁾

그리고 morphine에 의한 adenosine의 분비는 척수 전각에서는 분비되지 않아 운동신경에는 영향을 주지 않고 척수후각의 한정된 신경섬유 말단부에서 일어나고 척수상부로 부터의 하향성 monoaminergic 혹은 adrenergic 경로는 아니라고 한다.^{9,13)}

한편 면역반응을 이용한 해부학적 연구에서 후근 신경절 세포에도 adenosine A1 수용체가 존재하며 수용체의 활성을 통해서 이 세포의 신경말단부에서 신경전달물질의 분비를 억제하여 결과적으로 침해 자극에 의한 신경전도를 차단한다고 하였다.²⁷⁾

척수신경결찰에 의한 이질통의 경우 척수후각의 신경세포에서 연접부의 변화와 혹은 척수후각 lamina II에서의 구조적인 재편현상이 발생되는데,²⁷⁾ morphine의 척수강내 투여가 척수후각에서 adenosine을 분비하고 이것이 교양질이나 사이신경세포에 작용하여 접촉성 자극이 침해성 자극을 전도하는 재편된 통로에 작용하여 substance P 등의 분비를 억제하여 결과적으로 이질통을 차단하는 효과를 나타냈다고 추측된다. 따라서 adenosine이나 R-PIA도 척수강내 투여 시 유사한 작용을 나타낼 것으로 생각된다.

McLachlan 등은²⁸⁾ 말초신경 손상 후 축삭돌기들이 후근신경절로 자라들어가 교감신경이 분포하고 교감신경 자극이 이질통이 유발된다고 하였고, Evoniuk

등은²⁹⁾ 자율신경섬유에 adenosine이 많이 분포하고 adenosine이 catecholamine 분비의 전연접부 억제에 의해 교감신경 활성을 조절한다고 보고하였으며 Gomes 등도³⁰⁾ 신경손상 쥐에서 척수강내 투여 adenosine이 척수의 noradrenergic system과 상호작용하여 항침해작용을 나타내다고 하였다. 따라서 이질통의 경우 adenosine 분비나 외부 투여 시 교감신경성 요소에 의한 이질통을 경감할 수 있다고 판단되어 진다.

척수신경결찰에 의한 접촉유발성 이질통 쥐모델에서 척수강내로 adenosine을 투여하게 되면 radioligand 결합연구 시 척수조직내에서는 A1 수용체 결합부위가 증가하지만 내인성(endogenous) adenosine은 감소한다고 하였고 척수액내 adenosine은 약제 투여 30분 정도 후에는 소실되지만 그 효과는 장시간 지속된다고 한다.³¹⁾

Sandner-Kiesling 등은³²⁾ 척수강내 투여 morphine이 용량의존적으로 adenosine 분비를 유발하지만 신경결찰 쥐에서는 opioid의 역가나 효율성이 저하되는데 이는 척수부에서 정상적인 dipyrindamole sensitive opioid-adenosine 연결회로에 장애가 생기기 때문이라고 보고하였다.

Lavand'homme 등은³³⁾ 척수신경결찰 후 척수강내 투여 adenosine은 투여용량에 따라 항이질통 효과를 나타내지만 최대효과는 50% 정도라고 하였고 morphine자체의 이질통 경감 효과도 경미하지만 adenosine과 병용투여하면 부가적으로 morphine의 항이질통 효과를 향상시킨다고 하였다. 이번 실험에서도 비슷한 투여 용량에서 morphine이나 adenosine의 단독투여 시 용량의존적으로 중등도의 항이질통 효과를 보였으며 isobolographic 분석상 두 약제의 병용투여시는 의미있는 상승효과를 보이지는 않았지만 부가적인 효과가 있음을 확인하였다. 하지만 분율분석에서는 의미있는 상승효과가 있는 것으로 평가되었다.

이번 실험에서도 adenosine과 R-PIA의 용량반응곡선의 기울기가 평행하지 않은 것은 각 약제의 수용체에 대한 친화도가 다른 것을 보여주는 것이다. 비록 기울기가 평행하지는 않았지만 morphine과 adenosine의 혼합투여 시의 기울기가 각 약제의 기울기보다 왼쪽으로 이동되어 상승적인 효과가 있음을 알 수 있었다. 그리고 R-PIA의 용량반응곡선과 morphine과 R-PIA의 용량반응곡선이 보다 좌측에 위치하는 것으로 보아 A1 수용체가 통증억제에 주로 관

여하며 효율성이 더 좋음을 알 수 있었다. 또한 두 혼합투여 시의 기울기가 각 약제들의 단독투여에서 보다 큰 것으로 보아 병용투여 시 약제의 효율성이 증가되어 있음을 알 수 있으며, 각 군에서 용량반응 곡선의 기울기가 평행하지 않은 것은 각기 다른 기전에 의해 작용함을 반영한다고 할 수 있다.³⁴⁾ 그리고 이들 두 adenosine 수용체 작용제들의 용량반응곡선의 기울기가 평행하지 않은 것은 각 약제의 수용체에 대한 친화도가 다른 것을 보여주는 것이다. 비록 기울기가 평행하지는 않았지만 morphine과 adenosine 혼합투여 시의 기울기가 각 약제의 기울기보다 왼쪽으로 이동되어 있어 상승적인 효과가 있음을 알 수 있다. 또한 두 혼합투여시의 기울기가 각 약제들의 단독투여보다 큰 것으로 보아 병용투여시 약제의 효율성이 증가되어 있음을 알 수 있었다.

Isobolographic analysis에서 실험치는 이론적인 부가적 대각선을 기준으로 이론적 부가치와 비교하게 되는데, 이론적 부가치는 두 투여약제의 ED₅₀를 연결하는 대각선상에 위치하는데 실험치가 이 점의 왼쪽 아래에 위치하게 되면 상승적인 효과가 있다고 하고 대각선상에 위치하면 부가적인 효과가 있다고 판정하게 된다.^{22,23)} 한편 fractional analysis에서는 약물상호작용의 성질과 정도를 분석하기 위해 각 약제의 fraction을 구한 후 합계를 구한다. 즉, (혼합투여시의 약제 A의 ED₅₀ / 단독투여시의 약제 A의 ED₅₀) + (혼합투여시의 약제 B의 ED₅₀ / 단독투여시의 약제 B의 ED₅₀)의 합이 1 근처이면 부가적인 효과를 의미하고 1보다 작으면 두 약제간에 상승적인 효과가 있음을 의미한다고 본다.²⁴⁾

Roerig 등은³⁵⁾ morphine과 adenosine의 혼합투여의 경우처럼 두 약제간의 계산치의 표준오차범위가 넓어 실제 실험치의 표준오차범위와 겹쳐지는 것은 두 약제간에 부가적 상호작용이 있는 것이라고 하였다.

혼합투여에 의한 상승효과는 독립적인 수용체의 작용에 의해 유발되며 이는 투여된 약제의 청소(clearance)의 변화, 작용제 친화성의 변화 또는 두 약제간의 기능적인 상호작용에 의해 생긴다고 가정해 볼 수 있다. 혼합투여 군의 작용시간이 단독투여 군보다 현저히 증가되지 않았으므로 청소의 변화가 주된 원인은 아닐 것이며, 혼합투여군에서 단독투여 군 보다 기울기가 증가한 것으로 보아 작용제에 대한 수용체의 친화성에 변화가 주된 원인일 것이라고

생각된다.

결론적으로 척수신경절찰에 의한 이질통 유발쥐에서 척수강내 투여 R-PIA는 morphine과의 혼합투여시 통증을 경감시키는 의미있는 상승효과를 보였지만 adenosine과의 혼합투여시는 부가적인 효과를 나타내었다. 따라서 adenosine을 morphine과 동시에 투여할 경우에는 가급적 A1 수용체에 좀더 선택적으로 작용하는 작용제를 사용하는 것이 추천된다.

참 고 문 헌

1. Kim SH, Na HS, Sheen K, Chung JM: Effects of sympathectomy on a rat model of peripheral neuropathy. *Pain* 1993; 55: 85-92.
2. Kim KJ, Yoon YW, Chung JM: Comparison of three rodent neuropathic pain models. *Exp Brain Res* 1997; 113: 200-6.
3. Brundage JM, Dunwiddie TV: Role of adenosine as a modulator of synaptic activity in the central nervous system. *Adv Pharmacol* 1997; 39: 353-91.
4. Fredholm BB: Adenosine receptors in the central nervous system. *Physiol Sci* 1995; 10: 122-8.
5. Choca JI, Proudfit HK, Green RD: Identification of A1 and A2 adenosine receptors in the rat spinal cord. *J Pharmacol Exp Ther* 1987; 242: 905-10.
6. Choca JI, Green RD, Roudfit HK: Adenosine A1 and A2 receptors of the substantia gelatinosa are located predominantly on intrinsic neurons: an autoradiography study. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 247: 757-64.
7. Geiger JD, Labella FS, Nagy JI: Characterization and localization of adenosine receptors in the rat spinal cord. *J Neurosci* 1984; 4: 2303-10.
8. Karlsten R, Gordh T Jr, Hartvig P, Post C: Effects of intrathecal injection of the adenosine receptor agonists R-phenylisopropyl-adenosine and N-ethylcarboxamide-adenosine on nociception and motor function in the rat. *Anesth Analg* 1990; 71: 60-4.
9. Sweeney MI, White TD, Sawynok J: Involvement of adenosine in the spinal antinociceptive effects of morphine and noradrenaline. *J Pharmacol Exp Ther* 1987; 243: 657-65.
10. Lee YW, Yaksh TL: Pharmacology of the spinal adenosine receptor which mediates the antiallodynic action of intrathecal adenosine agonists. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 277: 1642-8.
11. Heijne M, Hao JX, Yu W, Sollevi A, Xu XJ, Wiesenfeld-Hallin Z: Reduced anti-allodynic effect of the

- adenosine A1-receptor agonist R-phenylisopropyladenosine on repeated intrathecal administration and lack of cross-tolerance with morphine in a rat model of central pain. *Anesth Analg* 1998; 87: 1367-71.
12. Karlsten R, Gordh T Jr: An A1-selective adenosine agonist abolishes allodynia elicited by vibration and touch after intrathecal injection. *Anesth Analg* 1995; 80: 844-7.
13. Sawynok J, Sweeney MI, White TD: Adenosine release may mediate spinal analgesia by morphine. *Trends Pharmacol Sci* 1989; 10: 186-9.
14. Segerdahl M, Ekblom A, Sjolund K, Belfrage M, Forsberg C, Sollevi A: Systemic adenosine attenuates touch evoked allodynia induced by mustard oil in humans. *Neuroreport* 1995; 6: 753-6.
15. Belfrage M, Segerdahl M, Arner S, Sollevi A: Safety and efficacy of intrathecal adenosine in patients with chronic neuropathic pain. *Anesth Analg* 1999; 89: 136-42.
16. Guieu R, Peragut JC, Roussel P, Hassani H, Sampieri F, Bechis G, et al: Adenosine and neuropathic pain. *Pain* 1996; 68: 271-4.
17. Hwang JH, Hwang KS, Choi Y, Park PH, Han SM, Lee DM: An analysis of drug interaction between morphine and neostigmine in rats with nerve ligation injury. *Anesth Analg* 2000; 90: 421-6.
18. Bian D, Nicholas ML, Ossipov MH, Lai J, Porreca F: Characterization of the antiallodynic efficacy of morphine in a model of neuropathic pain in rats. *Neuroreport* 1995; 6: 1981-4.
19. Kim SH, Chung JM: An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 1992; 50: 355-63.
20. Yaksh TL, Rudy TA: Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiol Behav* 1976; 17: 1031-6.
21. 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.
22. Tallarida RJ, Murray RB: Manual of pharmacologic calculations with computer programs. 2nd Ed. New York. Springer-Verlag, 1987.
23. Tallarida RJ, Porreca F, Cowan A: Statistical analysis of drug-drug and site-site interactions with isobolograms. *Life Sci* 1989; 45: 947-61.
24. Berenbaum MC: Synergy, additivism, and antagonism in immunosuppression: a critical review. *Clin Exp Immunol* 1977; 28: 1-18.
25. Heijne M, Hao JX, Sollevi A, Xu XJ: Intrathecal adenosine does not relieve allodynia-like behavior in spinally injured rats. *Neuroreport* 1999; 10: 3247-51.
26. Cahill CM, White TD, Sawynok J: Substance P releases and augments the morphine-evoked release of adenosine from spinal cord. *Brain Res* 1997; 760: 294-7.
27. Goff JR, Burkey AR, Goff DJ, Jasmin L: Reorganization of the spinal dorsal horn in models of chronic pain: correlation with behavior. *Neuroscience* 1998; 82: 559-74.
28. McLachlan EM, Janig W, Devor M, Michaelis M: Peripheral nerve injury triggers noradrenergic sprouting within dorsal root ganglia. *Nature* 1993; 363: 543-6.
29. Evoniuk GE, von Borstel RW, Wurtman RJ: Adenosine affects sympathetic neurotransmission at multiple sites in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 1986; 236: 350-5.
30. Gomes JA, Li X, Pan HL, Eisenach JC: Intrathecal adenosine interacts with a spinal noradrenergic system to produce antinociception in nerve-injured rats. *Anesthesiology* 1999; 91: 1072-9.
31. Bantel C, Tobin JR, Li X, Childers SR, Chen SR, Eisenach JC: Intrathecal adenosine following spinal nerve ligation in rat. *Anesthesiology* 2002; 96: 103-8.
32. Sandner-Kiesling A, Li X, Eisenach JC: Morphine-induced spinal release of adenosine is reduced in neuropathic rats. *Anesthesiology* 2001; 95: 1455-9.
33. Lavand'homme PM, Eisenach JC: Exogenous and endogenous adenosine enhance the spinal antiallodynic effects of morphine in a rat model of neuropathic pain. *Pain* 1999; 80: 31-6.
34. Kenakin TP: Pharmacologic analysis of drug-receptor interaction. New York, Raven Press. 1987.
35. Roerig SC, Fujimoto JM, Tseng LF: Comparisons of descending pain inhibitory pathways activated by β -endorphin and morphine as characterized by supraspinal and spinal antinociceptive interactions in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 247: 1107-13.