흰쥐의 수술 후 통증 모델에서 척수강 내로 투여한 Adenosine A1 수용체 작용제(R-PIA)의 모르핀 내성에 대한 효과

울산대학교 의과대학 서울아산병원 마취통증의학과, *중국 길림성 연변중앙병원 마취과

전인구 · 박릉철* · 권미영 · 박종연

The Effects of Intrathecal Adenosine A1 Receptor Agonists (R-PIA) on the Morphine Tolerance in a Rat Model of Postoperative Pain

In Gu Jun, M.D., Long Zhe Piao, M.D.*, Mi Young Kwon, M.D., and Jong Yeon Park, M.D.

Department of Anesthesiology and Pain Medicine, Asan Medical Center, College of Medicine, University of Ulsan, Seoul, Korea;

*Department of Anesthesia, Yanbian Tumor Hospital, Jilin, China

Background: Analgesic tolerance to opioids has been described in both experimental and clinical conditions, which may limit their clinical utility. This study investigated the effects of intrathecal adenosine A1 receptor agonist (R-PIA) on spinal morphine tolerance.

Methods: SD rats were given intrathecal injections of saline 10 μ l, R-PIA 10 μ g, morphine 10 μ g, or R-PIA plus morphine combinations for 7 days (R-PIA given for days 1–7; days 1–3; or days 5–7). Antiallodynic testing using von Frey filaments was carried out before and 30 minutes after the drug injection. On day 8, an antiallodynic dose-response curve was constructed and the 50% effective dose (ED₅₀) for morphine (given alone) was calculated for each study group.

Results: The coinjection group of R-PIA with morphine blocked the development of tolerance, as shown by the preservation of morphine antiallodynia over 7 days the concomitant decrease in the ED₅₀ values on day 8, compared with the morphine-alone group. Although additive analgesia over days 1–7 cannot be ruled out, the reductions of the ED₅₀ in the R-PIA and morphine combination group suggest some suppression of tolerance.

Conclusions: These results suggest that intrathecal R-PIA prevents the development of spinal opioid tolerance. Future studies will be needed to examine the respective roles of supraspinal and peripheral sites of R-PIA and morphine interaction, and to investigate the mechanisms underlying the action of R-PIA on opioid tolerance. (Korean J Anesthesiol 2007; 52: 212–8)

Key Words: allodynia, intrathecal, morphine, postoperative pain, R-PIA, tolerance.

서론

아편유사제의 효능은 지난 수 백년간 잘 알려져 왔으며, 외부에서 투여된 아편유사제도 아편유사물질 수용체에 작용하는 내인성 펩티드와 유사하게 진통작용을 포함한 다양한 작용을 나타낸다.¹⁾ 그러나 아편유사제의 사용 시 진통작

용에 대한 내성이 발현되므로 사용에 제한을 받게 되는데, 아편유사제 내성의 정의는 “아편유사제에 노출된 후 효과가 경감되거나 동일한 효과를 내기 위해 더 많은 용량을 필요로 하는 경우”이다.¹⁾ 인간에서 아편유사제 내성이 발현되는 조건은 알려져 있지 않지만,^{2,3)} 급성통증의 실험모델에서는 특히 잘 관찰된다.⁴⁾ 아편유사제 내성에 대한 이해가 깊어질수록 통증의 기전을 더 잘 이해하거나, 새로운 진통제를 개발하는데 중요한 단서가 될 수 있을 것이다.

아편유사제 내성 발현에 대한 기전으로는 척수 수준에서 dynorphin,⁵⁾ N-methyl-D-aspartate (NMDA),⁶⁾ 2-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid (AMPA)/kainate,⁷⁾ calcitonin gene-related peptide,⁸⁾ cyclooxygenase⁹⁾ 등의 조정작용(modulation)이 관련되어 있다고 알려져 있으며, 이러한 조정

논문접수일 : 2006년 7월 24일

책임저자 : 박종연, 서울특별시 송파구 풍납2동 388-1

서울아산병원 마취통증의학과, 우편번호: 138-736

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

E-mail: danielpy@lycos.co.kr

이 논문은 2005년도 아산생명과학연구소의 연구지원비(2005-311)에 의한 것임.

작용으로 항침해 효과도 나타날 수 있다.¹⁰⁻¹²⁾ 이외에도 아편 유사제 내성현상은 신경이나 조직손상 시 나타나는 척수 변화와 유사한 변화를 보이며, protein kinase C (PKC)의 활성화와 이동, 아산화질소와 cholecystokinin의 조정작용을 보이기도 한다.⁶⁾

Adenosine은 조직손상이나 허혈로 인해 말초에서 유리될 경우 침해수용체를 직접 자극하여 통증을 유발하지만, 중추 신경계에서는 연접후막의 K^+ 통로를 활성화하고 일차감각 신경원의 척수부 말단에서 substance P나 glutamate 등의 신경전달물질의 분비를 감소시키는 기전으로 진통효과를 나타낸다.¹³⁾ Adenosine은 또한 척수 수준에서의 통각정보를 조정하는 역할을 한다고 알려져 있으며,¹⁴⁾ Adenosine 수용체는 통각정보를 전달하는 일차 구심성 신경이 연결되는 교양질에 위치한다.¹⁵⁾ 현재까지 4종류(A1, A2a, A2b, A3)의 adenosine 수용체가 발견되었으며¹⁶⁾ 척수부에서의 진통효과에는 A1 수용체가 주로 관여한다.^{17,18)} Adenosine과 adenosine 수용체 작용제들은 동물실험에서 급성 통각에 대한 반응을 차단하고,^{17,19)} 말초염증 모델²⁰⁾ 또는 신경손상 모델에서²¹⁾ 열 자극과 기계적 자극에 대한 과민을 감소시킨다. Adenosine A1 수용체 작용제인 N^6 -(2-phenylisopropyl)-adenosine R-(−)-isomer (R-PIA)는 adenosine A1 수용체에만 선택적으로 작용하므로^{21,22)} adenosine보다 소량으로 진통효과를 나타낼 수 있으며, 따라서 적은 부작용으로 통증치료에 사용될 가능성이 있다고 생각된다. 최근 R-PIA와 모르핀을 척수강 내로 병용투여 시 항이질통 효과를 상승시킨다는 보고가 있으나²³⁾ R-PIA가 모르핀 내성에 미치는 효과에 대해서는 연구된 바가 거의 없는 실정이다.

일반적으로 수술 후 통증은 급성통증의 한 형태로 생각되고 있으며, 외과적 절개 후 발생한 통증으로 인해 상처 주변에 기계적 통각과민이 유발된다.²⁴⁾ 흰쥐의 수술 후 통증 모델은 절개 후 기계적 이질통이 수일간 지속되고, 이질통을 재연하고 정량하기 좋은 모델로 알려져 있으며,²⁵⁾ 인간의 수술 후 통증 상태와 가장 유사하다고 생각되고 있다. 따라서 이번 실험에서는 흰쥐의 수술 후 통증 모델을 이용하여, 척수강 내로 R-PIA를 투여한 후 기계적 이질통 억제효과가 있는지 알아보고자 하였으며, 척수에서의 모르핀 내성에 대하여 R-PIA가 어떤 영향을 미치는지 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

이 실험은 본원의 동물관리 및 사용위원회의 승인과 규정에 의거하였으며, 모든 동물들은 생체 통증연구에 대한 윤리지침에 따라 취급되었다. 몸무게 250–350 g의 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley)를 사용하여 물과 먹이를 자유롭게 취할

수 있는 상자에 넣어 사육실에서 최소한 3일 이상 주위 환경에 적응시키며 12시간(오전 6시–오후 6시)의 광주기성을 유지시켰다. 통증반응을 관찰하는 모든 실험은 광주기성에 의한 오차를 줄이기 위해 오후 1시부터 4시 사이의 일정한 시간대에 시행하였다.

척수강 내로 약물을 투여하기 위해 엔플루란 마취하에서 카테터 거치술을 시행하였다. 마스크를 씌우고 100% 산소에 엔플루란을 3 vol%로 하여 자발호흡을 유지시키는 마취 상태에서 실험쥐를 입체정위고정대(stereotaxic frame)에 고정시킨 후 후두경부 정중선에서 절개하였으며 근육을 분리하고 경막을 주사침으로 천자하여 척수액이 나오는지 확인 후 길이 8.5 cm의 PE-10 튜브를 요부확장부인 제12흉추와 제1요추 부위에 카테터의 끝이 위치하도록 척수강 내에 거치하였다.²⁶⁾ 쥐가 마취에서 회복된 후 보행자세, 척추의 기형, 환부측 다리의 구부림 등을 관찰하여 운동기능 손상 증후가 보이면 실험에서 제외시켰으며, 최소한 5일 이상 경과한 뒤 몸무게가 수술 전과 비슷해지면 수술 후 통증모델을 제작하였다.

수술 후 통증모델 제작은 100% 산소에 엔플루란을 3 vol%로 하여 자발호흡을 유지시키는 마취상태에서 Brennan 등의²⁵⁾ 방법으로 우측 족저부를 깨끗이 소독한 후 발뒤꿈치에서 0.5 cm 전방에서부터 종축을 따라 11번 수술용 칼로 피부를 1 cm 절개하고 족저근을 들어올려 근막과 근육을 종축으로 다시 한 번 절개 후 면봉으로 가볍게 압박하여 지혈시켰다. Nylon 5-0으로 창상봉합 후 감염방지를 위해 항생제 연고를 도포하였다. 2시간 동안 회복시킨 후 실험에 사용하였으며, 관찰기간 중 감염이 발생하거나 창상이 벌어진 경우는 실험에서 제외하였다.

기계적 자극에 대한 항이질통 효과를 평가하기 위하여 절개수술 전에 각 굵기별로 된 8개의 von Frey hairs (1.4, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 26 g)를 사용하여 회피반응의 역치를 측정하였으며, 절개수술 2시간 후 다시 역치를 측정하여 기준치로 하였다. 기준치가 4.0 g 이상일 경우 실험에서 제외하였다. 회피반응의 역치를 측정하는 방법은 흰쥐를 그물눈의 크기가 2 × 2 mm인 철망 실험대 위에 설치된 아크릴 상자에 넣고 von Frey hairs를 약한 정도에서부터 강한 정도의 순서로 3회 반복하여 절개부위 부근에 약간 구부러질 정도로 6–8초 힘을 주어 발바닥을 들거나, 핏거나, 회피하는 현상을 양성반응으로 간주하여, 양성을 나타내는 최소의 힘을 역치로 하였으며, 26 g 이상에서도 반응이 없을 때를 상한선으로 하여 더 이상 적용하지 않았다.²⁷⁾ 기계적 자극에 대한 회피반응은 척수강내 카테터로 약제 투여 후 15, 30, 45, 60, 90, 120분에 관찰하였으며, 운동기능 저하 등과 같은 부작용을 함께 평가하였다.

항이질통 효과는 각 군에서 다음의 공식을 이용하여 %MPE

(percentage of maximum possible effect)를 구하여 비교하였다.

$$\text{항이질통 효과(\%MPE)} = \frac{(\text{투약 후 역치} - \text{투약 전 역치})}{(26 \text{ g} - \text{투약 전 역치})} \times 100$$

모르핀(morphine sulfate, MW = 668.76; RBI, USA)와 R-PIA (MW = 385.4; RBI, USA)는 생리식염수에 용해시켜 척수강 내로 투여하였으며, 모든 경우에서 10 μ l 용적에 각 농도의 약제들을 만들어 카테터에 연결한 Hamilton Micro-liter[®] 주사기(Hamilton Co., USA)로 30초에 걸쳐 서서히 척수강 내로 주사하였고 동량의 생리식염수를 주사하여 카테터내의 약물이 척수강 내로 모두 주입되게 하였다. 약물의 투여용량과 투여시기는 예비실험의 결과와 경험을 토대로 정하였다.

실험구성은 첫째, 모르핀과 R-PIA의 급성 항이질통 효과를 측정하기 위하여 모르핀 3 μ g 또는 R-PIA 10 μ g을 각각 척수강 내로 투여하고 2시간 동안 시간에 따른 기계적 자극에 대한 회피반응을 관찰하였다. 또한 두 약제를 척수강 내로 병용투여한 후 기계적 자극 시 항이질통 효과에 대한 모르핀과 R-PIA의 상호작용을 관찰하였다.

둘째, 척수에서의 모르핀 내성을 발현시키기 위해 7일간 오후 1시-3시 사이의 일정한 시간에 모르핀 10 μ g을 척수강 내로 투여하고(n = 9) 기계적 자극에 대한 항이질통 효과를 평가하였으며, 제8일에 모르핀에 대한 누적 용량반응곡선과 50% 유효용량(ED₅₀)을 구하였다. 50% 유효용량을 구하기 위해 모르핀의 누적 용량 0, 12.5, 37.5, 87.5, 187.5 μ g을 최대 항이질통 효과가 나타날 때까지 오름차순으로 투여하였으며, 투약 30분 후 회피반응을 평가하고 다음 용량을 투여하였다. 누적 용량반응곡선에서 얻어진 50% 유효용량으로 모르핀 역가를 비교하였다. 모르핀의 내성 발현 여부는 7일간의 실험기간 중 모르핀 효과가 점차 감소하고, 50% 유효용량이 증가하며, 모르핀에 대한 용량반응곡선이 우측으로 변위되는 것으로 확인하였다. 대조군(n = 9)은 동량의 생리식염수를 7일간 척수강 내로 투여 후 항이질통 효과를 관찰하였으며, 모르핀의 누적 용량 0, 2.5, 7.5, 17.5, 37.5 μ g을 사용하여 누적 용량반응곡선과 50% 유효용량을 구하였다.

셋째, 모르핀 내성 발현에 대한 R-PIA의 효과를 관찰하기 위해 R-PIA 10 μ g과 모르핀 10 μ g을 제1일부터 제7일까지 7일간 병용투여하였다(n = 9). R-PIA의 용량 10 μ g은 예비 실험에서 R-PIA 단독투여 시 항이질통 효과가 적으면서도 모르핀과 병용투여 시 약 100%를 나타내는 용량으로 결정하였다. 동일한 방법으로 항이질통 효과를 평가하였으며, 제8일에 모르핀의 누적 용량 0, 2.5, 7.5, 17.5, 37.5 μ g을 사용하여 누적 용량반응곡선과 50% 유효용량을 구하였다.

넷째, 모르핀 내성이 이미 발현된 후에 R-PIA의 효과를 관찰하기 위해 제1일부터 제4일까지 4일간 모르핀 10 μ g을 척수강 내로 투여하고, 제5일부터 제7일까지 3일간 R-PIA 10 μ g과 모르핀 10 μ g을 병용투여하였다(n = 9). 제8일에 모르핀의 누적 용량 0, 2.5, 7.5, 17.5, 37.5 μ g을 사용하여 누적 용량반응곡선과 50% 유효용량을 구하였다.

다섯째, 모르핀 내성 발현 중 R-PIA를 제거 시 모르핀 내성 발현의 변화를 관찰하기 위해 제1일부터 제3일까지 3일간 R-PIA 10 μ g과 모르핀 10 μ g을 척수강 내로 병용투여하고, 제4일부터 제7일까지 4일간 R-PIA 없이 모르핀 10 μ g을 단독투여하였다(n = 9). 동일한 방법으로 제8일에 모르핀의 누적 용량 0, 2.5, 7.5, 17.5, 37.5 μ g을 사용하여 누적 용량반응곡선과 50% 유효용량을 구하였다.

50% 유효용량, 용량반응곡선의 기울기, 95% 신뢰구간은 Tallarida 등의²⁸⁾ 방법을 컴퓨터 프로그램화한 worksheet를 이용하여, 용량반응곡선으로부터 구하였다. 약물주입과 측정은 실험자가 결과에 대한 영향을 주지 않도록 맹검적으로 실시하였다.

통계분석은 Sigma Stat (version 2.03, Systat software, USA) 프로그램을 사용하였다. 기준치와의 비교는 Mann-Whitney Rank Sum Test를 사용하였고, 시간 경과에 따른 항이질통 효과를 비교하기 위해 one-way repeated measures ANOVA를 이용하였고 Tukey test를 사용하여 사후검정하였다. 대조군이나 각 군 간의 비교는 Mann-Whitney Rank Sum test 또는 Kruskal-Wallis One Way ANOVA test를 사용하였다. 모든 측정치는 평균 $\pm$ 표준오차로 나타내었으며, P값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 의미있는 것으로 판정하였다.

결 과

모르핀 3 μ g을 척수강 내로 투여한 경우, 이질통 역치가 시간에 따라 증가되었으며 30분에 최대치인 33.6%에 도달하였고 이후 서서히 감소하였으나 120분까지 통계적으로 의미있게 증가한 상태로 유지되었다. R-PIA 10 μ g 투여군에서도 이질통 역치가 증가되었으며 30분에 최대치인 16.8%를 나타낸 후 점차 감소하여 90분 이후에는 거의 기준치 수준으로 회복되었다. 모르핀 3 μ g 또는 R-PIA 10 μ g을 투여한 경우 대조군에 비하여 이질통 역치가 통계적으로 의미있게 증가하였다(P < 0.05). 시간경과에 따른 변화의 양상은 각 약제들에서 유사하였다(Fig. 1). 모르핀 3 μ g과 R-PIA 10 μ g을 척수강 내로 병용투여 시 의미있는 상승효과가 관찰되었으며, 단독투여의 양상과 대체로 유사하였다(Fig. 1). 각 군의 모든 실험에 사용된 흰쥐에서 실험에 지장을 주는 운동장애나 심한 진정작용은 보이지 않았다.

모르핀 10 μ g을 7일간 척수강 내로 투여한 경우, 제1일에

Fig. 1. Acute antiallodynic responses (mean $\pm$ SEM) to intrathecal saline 10 μ l, morphine 3 μ g, R-PIA 10 μ g, and morphine 3 μ g + R-PIA 10 μ g. *: $P < 0.05$ versus saline, †: $P < 0.05$ versus morphine alone. R-PIA: N^6 -(2-phenylisopropyl)-adenosine R-(–)isomer, I.T.: intrathecal, %MPE: percentage of maximum possible effect.

Fig. 2. Antiallodynic responses (mean $\pm$ SEM) to chronic intrathecal saline 10 μ l, morphine 10 μ g, and morphine 10 μ g + R-PIA 10 μ g (R-PIA given for days 1–7, days 1–3, or days 5–7). *: $P < 0.05$ versus saline, †: $P < 0.05$ versus morphine alone, ‡: $P < 0.05$ versus morphine day 1. R-PIA: N^6 -(2-phenylisopropyl)-adenosine R-(–)isomer, I.T.: intrathecal, %MPE: percentage of maximum possible effect.

최대의 항이질통 효과(95.0%)가 관찰되었지만, 점차 감소하여 제7일에 거의 기준치 수준(2.9%)까지 감소하였다(Fig. 2).

모르핀 10 μ g과 R-PIA 10 μ g을 7일간 척수강 내로 병용투

Table 1. Effect of R-PIA on the Development and Reversal of Spinal Morphine Tolerance; Morphine ED_{50} Results

Chronic treatment group	ED_{50} (μ g, CI)
Saline (n = 9)	1.8 (0.9–3.6)*
Morphine 10 μ g (days 1–7) (n = 9)	19.6 (7.0–55.4)
Morphine 10 μ g + R-PIA 10 μ g (days 1–7) (n = 9)	2.1 (1.1–3.9)*
Morphine 10 μ g + R-PIA 10 μ g (days 1–3) (n = 9)	3.1 (1.7–5.5)*
Morphine 10 μ g + R-PIA 10 μ g (days 5–7) (n = 9)	2.5 (1.3–4.5)*

After the end of the 7-day chronic treatment period, cumulative dose-response curves to acute morphine were generated on day 8. ED_{50} values were derived from these curves. *: $P < 0.05$ compared to morphine alone. ED_{50} : 50% effective dose, CI: confidence interval, R-PIA: N^6 -(2-phenylisopropyl)-adenosine R-(–)isomer.

여 시 제1일부터 제5일까지는 최대의 항이질통 효과(85.1–100%)가 관찰되었으며, 모르핀의 항이질통 효과 감소가 나타나지 않았으나, 제6일 이후에는 의미있게 감소(70.6–74.7%)하였다(Fig. 2).

모르핀 10 μ g을 제1일부터 제4일까지 4일간 척수강 내로 단독투여하고, 제5일부터 제7일까지 3일간 R-PIA 10 μ g과 모르핀 10 μ g을 병용투여한 경우 모르핀의 항이질통 효과는 제4일(20.5%)까지 점차 감소하였으나, 제5일부터 제7일까지 모르핀의 항이질통 효과가 부분적으로 회복되었다(60.0–70.2%).

모르핀 10 μ g과 R-PIA 10 μ g을 제1일부터 제3일까지 3일간 척수강 내로 병용투여하고, 제4일부터 제7일까지 4일간 모르핀 10 μ g을 단독투여한 경우, 제4일까지는 모르핀의 항이질통 효과가 최대로 유지되었으나 제5일(80.0%)부터 제7일(30.4%)까지 항이질통 효과가 점차 감소하였다.

모르핀 10 μ g을 7일간 척수강 내로 단독투여한 경우, 제8일에 측정된 50% 유효용량은 19.6 μ g이었고, 생리식염수만 투여한 대조군에서 morphine의 50% 유효용량은 1.8 μ g이었다. 모르핀 단독투여한 경우 50% 유효용량은 대조군에 비하여 약 11배 높게 나타났다. 또한 모르핀 10 μ g과 R-PIA 10 μ g을 제1일부터 제7일, 제1일부터 제3일, 제5일부터 제7일까지 각각 병용투여한 경우 50% 유효용량은 각각 2.1 μ g, 3.5 μ g, 2.5 μ g이었으며, 모르핀을 단독 투여한 경우(19.6 μ g)에 비하여 50% 유효용량이 유의하게 낮았다(Table 1).

고 찰

원취의 수술 후 통증 모델을 이용한 이번 실험에서 척수강 내로 투여된 R-PIA가 모르핀의 항이질통에 대한 내성발현을 억제함을 확인하였다. 특히 모르핀과 R-PIA를 7일간

척수강 내로 병용투여했을 때 내성발현 억제효과가 지속적으로 나타났다. 그러나 R-PIA의 투여를 중지한 후 48시간 이내에 모르핀에 대한 내성이 다시 나타난 것을 볼 때 모르핀의 효능을 유지하기 위해서 R-PIA를 지속적으로 척수강 내로 병용투여해야 할 것으로 생각된다. 모르핀 내성이 이미 발현된 후에 R-PIA를 투여하면 모르핀의 항이질통 효과가 부분적으로 회복되는 것으로 미루어, 모르핀의 내성발현을 감소시키기 위해서는 모르핀과 R-PIA를 병용투여하거나 모르핀 투여 시 추가로 R-PIA를 투여해야 함을 알 수 있었다.

이번 실험에 사용된 수술 후 통증모델은 1996년 Brennan 등에 의해 보고되었으며, 급성통증에 대한 새롭고 유효한 치료방법을 개발하고 술 후 통증연구를 위한 흰쥐 모델이다.²⁵⁾ 급성통증에 대한 연구는 hot plate test, tail dip test, tail flick test, paw pressure test, formalin test 등의 방법이 사용되었으며, 외상 후 통증에 대한 연구는 슬관절 염증 모델, 족부화상 모델 등이 사용되었다. 그러나 이러한 모델에서 화학약제에 의한 염증에 노출시키거나, 화상에 노출시켜 유발된 통증은 인체에서 나타나는 통증과는 기전이나 양상이 다르므로 연구결과를 인체에 적용하기에는 무리가 있다. 흰쥐의 수술 후 통증모델은 인체의 수술 후 통증과 매우 유사하므로 이러한 약점들을 상당부분 극복하였으며 이 모델을 이용한 실험결과도 지속적으로 보고되고 있다.

모르핀 투여 시 내성을 유발하는 용량을 보면 모르핀 10 mg/kg을 12일 이상 피하투여하거나,^{29,30)} 모르핀 10-15 μ g을 5일 이상 척수강 내로 투여 시 발생하는 것으로 알려져 있으며,^{31,32)} 이는 이번 저자들의 실험결과와도 일치된다.

R-PIA가 모르핀의 내성발현을 억제하는 기전을 정확히 알 수는 없지만, R-PIA와 흥분성 아미노산의 관계를 생각해 볼 수 있다. 흰쥐의 해마에서 adenosine 수용체 중 특히 A1 수용체는 아스파르테이트와 글루탐산염 등 흥분성 아미노산의 방출을 억제하는 데 관여한다.^{33,34)} 또한 해마의 사이신 경세포에 있는 NMDA 수용체가 활성화되면 adenosine이 분비되어 흥분성 시냅스에서의 글루탐산염의 방출을 억제한다.³⁵⁾ 이러한 작용들은 adenosine A1 수용체에만 선택적으로 작용하는 길항제에 의해 차단된다. 그러나 척수에서도 이러한 기전으로 작용하는지는 확실하지 않으며, 척수에서 방출되는 흥분성 아미노산에 대하여 adenosine이 직접 작용하는지는 알려져 있지 않다. 또한, adenosine A1 수용체가 시냅스전에 작용하여 흥분성 아미노산의 방출을 억제하는지 여부도 명확하지 않다. Laminae II 신경세포의 whole cell patch clamp 연구에서 adenosine과 adenosine A1 수용체 작용제가 시냅스전에 작용하여 글루탐산염의 방출을 억제하였다는 보고가 있으며,^{36,37)} 흰쥐의 척수 synaptosome에서 adenosine A1 수용체가 시냅스전에 활성화되면 일차 구심성신경원에

서 글루탐산염의 방출을 억제한다고 하였다.³⁸⁾ R-PIA가 글루탐산염의 방출 억제에 관여하므로 모르핀의 내성발현 억제에도 관여할 것으로 생각된다. 한편으로는 아편유사제 수용체와 adenosine A1 수용체의 작용에 관하여 각 수용체 작용제의 친화력 변화 또는 각 수용체의 기능적 상호작용에 대한 가능성도 내성발현 억제의 원인으로 생각해 볼 수 있다.³⁹⁾

이번 실험에서 모르핀 10 μ g과 R-PIA 10 μ g을 7일간 병용투여 시 모르핀의 내성발현이 억제되었으나 6일 이후에는 이러한 억제효과가 의미있게 감소하였는데, 이는 adenosine A1 수용체 자체가 민감소실과 관련이 있기 때문으로 생각된다. Adenosine A1 수용체의 민감소실에 관한 몇 가지 연구가 있다.^{40,41)} 흰쥐의 지방세포에 R-PIA를 6일간 작용시켜서 adenosine A1 수용체를 활성화시키면 adenosine A1 수용체가 하향조절되며, 수용체 작용부위의 친화력이 감소되고, G 단백질과 수용체의 결합저지가 나타난다고 하였다.⁴²⁾ 흰쥐의 뇌형질막을 이용한 생체 내 실험에서 R-PIA를 장기간 투여 시 adenosine A1 수용체를 매개로 한 adenylyl cyclase 억제가 감소한다고 하였다.⁴³⁾ 흰쥐 소뇌의 과립세포에 R-PIA를 2-48시간 작용시킨 후에 adenylyl cyclase 억제가 감소한다는 보고도 있다.⁴⁴⁾ 척수에서도 유사한 기전으로 adenosine A1 수용체의 민감소실이 발생하여 모르핀의 내성발현 억제효과가 의미있게 감소하였다고 추측할 수 있다.

이번 실험에서 7일간의 실험 기간 중 척수강 내로 투여한 모르핀과 R-PIA의 부가작용으로 모르핀의 항이질통 효과 감소가 차단된 것처럼 관찰되었을 가능성도 배제할 수는 없다. 두 약제의 부가작용 여부를 확인하기 위해서는 isobologram을 작성하여 확인하는 것이 좋겠지만, 흰쥐의 수술 후 통증모델에서 R-PIA 10 μ g 또는 20 μ g을 척수강 내로 단독 투여 시 각각 16%, 40% 정도의 항이질통 효과를 나타내었으며, R-PIA 30 μ g을 투여한 경우 운동 차단이 나타나 항이질통 효과를 측정할 수 없었다. 그러므로 isobologram을 작성할 수 없었다.

결론적으로, 이번 실험에서는 흰쥐의 수술 후 통증 모델을 이용하여 척수강 내로 투여된 R-PIA가 모르핀의 급성 항이질통 효과를 의미있게 상승시키며, 항이질통에 대한 내성발현을 억제함을 확인하였다. 또한, 모르핀과 R-PIA를 척수강 내로 병용투여했을 때 내성발현 억제효과가 지속됨을 확인하였다. 모르핀 사용 시 내성발현으로 인해 모르핀 사용에 제한을 받게 되는 경우가 있는데, 내성발현의 기전을 이해함으로써 통증치료 효과를 더욱 증가시킬 수 있을 것이다. 모르핀과 R-PIA의 상승작용 및 내성발현 억제 효과를 설명하기 위해 두 약제의 작용위치와 작용기전을 밝히기 위한 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다. 또한 임상적으로도 모르핀과 R-PIA의 병용투여가 효과적인 경우와 환자

군을 규명하는 것도 필요하다고 생각된다.

참 고 문 헌

1. Foley KM: Opioids. *Neurol Clin* 1993; 11: 503-22.
2. Cortinez LI, Brandes V, Munoz HR, Guerrero ME, Mur M: No clinical evidence of acute opioid tolerance after remifentanyl-based anaesthesia. *Br J Anaesth* 2001; 87: 866-9.
3. Guignard B, Bossard AE, Coste C, Sessler DI, Lebrault C, Alfonsi P, et al: Acute opioid tolerance: intraoperative remifentanyl increases postoperative pain and morphine requirement. *Anesthesiology* 2000; 93: 409-17.
4. Jhamandas K, Powell KJ, Quirion R, Milne B: Opioid tolerance and physical dependence: role of spinal neuropeptides, excitatory amino acids and their messengers. *Pain Res Manag* 2000; 5: 25-32.
5. Vanderah TW, Ossipov MH, Lai J, Malan TP Jr, Porreca F: Mechanisms of opioid-induced pain and antinociceptive tolerance: descending facilitation and spinal dynorphin. *Pain* 2001; 92: 5-9.
6. Mayer DJ, Mao J, Holt J, Price DD: Cellular mechanisms of neuropathic pain, morphine tolerance, and their interactions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 7731-6.
7. Kest B, McLemore G, Kao B, Inturrisi CE: The competitive alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionate receptor antagonist LY293558 attenuates and reverses analgesic tolerance to morphine but not to delta or kappa opioids. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 283: 1249-55.
8. Powell KJ, Ma W, Sutak M, Doods H, Quirion R, Jhamandas K: Blockade and reversal of spinal morphine tolerance by peptide and non-peptide calcitonin gene-related peptide receptor antagonists. *Br J Pharmacol* 2000; 131: 875-84.
9. Powell KJ, Hosokawa A, Bell A, Sutak M, Milne B, Quirion R, et al: Comparative effects of cyclo-oxygenase and nitric oxide synthase inhibition on the development and reversal of spinal opioid tolerance. *Br J Pharmacol* 1999; 127: 631-44.
10. Gilron I, Max MB, Lee G, Booher SL, Sang CN, Chappell AS, et al: Effects of the 2-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid/kainate antagonist LY293558 on spontaneous and evoked postoperative pain. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 68: 320-7.
11. Stubhaug A, Breivik H, Eide PK, Kreunen M, Foss A: Mapping of punctuate hyperalgesia around a surgical incision demonstrates that ketamine is a powerful suppressor of central sensitization to pain following surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 1997; 41: 1124-32.
12. Lashbrook JM, Ossipov MH, Hunter JC, Raffa RB, Tallarida RJ, Porreca F: Synergistic antiallodynic effects of spinal morphine with ketorolac and selective COX1- and COX2-inhibitors in nerve-injured rats. *Pain* 1999; 82: 65-72.
13. Brundage JM, Dunwiddie TV: Role of adenosine as a modulator of synaptic activity in the central nervous system. *Adv Pharmacol* 1997; 39: 353-91.
14. Sawynok J, Sweeney MI: The role of purines in nociception. *Neuroscience* 1989; 32: 557-69.
15. Braas KM, Newby AC, Wilson VS, Snyder SH: Adenosine-containing neurons in the brain localized by immunocytochemistry. *J Neurosci* 1986; 6: 1952-61.
16. Bantel C, Childers SR, Eisenach JC: Role of adenosine receptors in spinal G-protein activation after peripheral nerve injury. *Anesthesiology* 2002; 96: 1443-9.
17. 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.
18. 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.
19. Post C: Antinociceptive effects in mice after intrathecal injection of 5'-N-ethylcarboxamide adenosine. *Neurosci Lett* 1984; 51: 325-30.
20. Poon A, Sawynok J: Antinociception by adenosine analogs and inhibitors of adenosine metabolism in an inflammatory thermal hyperalgesia model in the rat. *Pain* 1998; 74: 235-45.
21. 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.
22. von Heijne M, Hao JX, Sollevi A, Xu XJ, Wiesenfeld-Hallin Z: Marked enhancement of anti-allodynic effect by combined intrathecal administration of the adenosine A1-receptor agonist R-phenylisopropyladenosine and morphine in a rat model of central pain. *Acta Anaesthesiol Scand* 2000; 44: 665-71.
23. Lee JR, Kim YK, Choi DK, Park JY, Kwak MJ, Hwang JH: The Interaction of Morphine and Adenosine Receptor Agonists on Antiallodynia in Rats with a Nerve Ligation Injury. *Korean J Anesthesiol* 2002; 42: 823-30.
24. Tverskoy M, Oz Y, Isakson A, Finger J, Bradley EL Jr, Kissin I: Preemptive effect of fentanyl and ketamine on postoperative pain and wound hyperalgesia. *Anesth Analg* 1994; 78: 205-9.
25. Brennan TJ, Vandermeulen EP, Gebhart GF: Characterization of a rat model of incisional pain. *Pain* 1996; 64: 493-501.
26. Yaksh TL, Rudy TA: Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiol Behav* 1976; 17: 1031-6.
27. Kim TJ, Cheong CK, Han JU, Lim HK, Lee CS, Lee HS, et al: Effects of capsaicin application to peripheral nerves in a rat model for human postoperative pain. *Korean J Anesthesiol* 2002; 43: 216-25.
28. Tallarida RJ, Porreca F, Cowan A: Statistical analysis of drug-drug and site-site interactions with isobolograms. *Life Sci* 1989; 45: 947-61.
29. Dong Z, Mao R, Han H, Cao J, Xu L: Morphine withdrawal modifies antinociceptive effects of acute morphine in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 346: 578-82.
30. Grecksch G, Bartsch K, Widera A, Becker A, Holtt V, Koch T: Development of tolerance and sensitization to different opioid agonists in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2006; 186: 177-84.
31. Lim G, Wang S, Zeng Q, Sung B, Mao J: Spinal glucocorticoid receptors contribute to the development of morphine tolerance in

- rats. *Anesthesiology* 2005; 102: 832-7.
32. Hansen C, Gilron I, Hong M: The effects of intrathecal gabapentin on spinal morphine tolerance in the rat tail-flick and paw pressure tests. *Anesth Analg* 2004; 99: 1180-4.
33. Corradetti R, Lo Conte G, Moroni F, Passani MB, Pepeu G: Adenosine decreases aspartate and glutamate release from rat hippocampal slices. *Eur J Pharmacol* 1984; 104: 19-26.
34. Fastbom J, Fredholm BB: Inhibition of [3H] glutamate release from rat hippocampal slices by L-phenylisopropyladenosine. *Acta Physiol Scand* 1985; 125: 121-3.
35. Manzoni OJ, Manabe T, Nicoll RA: Release of adenosine by activation of NMDA receptors in the hippocampus. *Science* 1994; 265: 2098-101.
36. Patel MK, Pinnock RD, Lee K: Adenosine exerts multiple effects in dorsal horn neurones of the adult rat spinal cord. *Brain Res* 2001; 920: 19-26.
37. Ackley MA, Governo RJ, Cass CE, Young JD, Baldwin SA, King AE: Control of glutamatergic neurotransmission in the rat spinal dorsal horn by the nucleoside transporter ENT1. *J Physiol* 2003; 548: 507-17.
38. Li X, Eisenach JC: Adenosine reduces glutamate release in rat spinal synaptosomes. *Anesthesiology* 2005; 103: 1060-5.
39. Hwang JH, Hwang GS, Cho SK, Han SM: Morphine can enhance the antiallodynic effect of intrathecal R-PIA in rats with nerve ligation injury. *Anesth Analg* 2005; 100: 461-8.
40. Lee HT, Thompson CI, Hernandez A, Lewy JL, Belloni FL: Cardiac desensitization to adenosine analogues after prolonged R-PIA infusion in vivo. *Am J Physiol* 1993; 265: H1916-27.
41. Lee HT, Cuomo-Scholer A, Belloni FL, Thompson CI: Regulation of renal A(1) adenosine receptors in vivo. *Exp Nephrol* 2002; 10: 43-50.
42. Longabaugh JP, Didsbury J, Spiegel A, Stiles GL: Modification of the rat adipocyte A1 adenosine receptor -adenylate cyclase system during chronic exposure to an A1 adenosine receptor agonist: alterations in the quantity of GS alpha and Gi alpha are not associated with changes in their mRNAs. *Mol Pharmacol* 1989; 36: 681-8.
43. Ruiz A, Sanz JM, Gonzalez-Calero G, Fernandez M, Andres A, Cubero A, et al: Desensitization and internalization of adenosine A1 receptors in rat brain by in vivo treatment with R-PIA: involvement of coated vesicles. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1310: 168-74.
44. Vendite D, Sanz JM, Lopez-Alanon DM, Vacas J, Andres A, Ros M: Desensitization of adenosine A1 receptor-mediated inhibition of adenylyl cyclase in cerebellar granule cells. *Neurochem Res* 1998; 23: 211-8.