

## 흰쥐의 포르말린 검사에서 척수강 내로 혼합 투여한 NMDA 수용체 길항제와 5-HT<sub>3</sub> 수용체 작용제의 상호 작용

연세대학교 의과대학 <sup>1</sup>마취통증의학교실 및 <sup>2</sup>마취통증의학연구소, <sup>3</sup>순천향대학교 의과대학 마취통증의학교실

한동우<sup>1,2</sup> · 권태동<sup>1,2</sup> · 이종석<sup>1,2</sup> · 유영철<sup>1</sup> · 이윤우<sup>1,2</sup> · 김선종<sup>3</sup>

### The Interaction between Intrathecal NMDA Receptor Antagonist and 5-HT<sub>3</sub> Receptor Agonist in the Rat Formalin Test

Dong Woo Han, M.D.<sup>1,2</sup>, Tae Dong Kweon, M.D.<sup>1,2</sup>, Jong Seok Lee, M.D.<sup>1,2</sup>, Young Chul Yoo, M.D.<sup>1</sup>, Youn-Woo Lee, M.D.<sup>1,2</sup>, and Sun Chong Kim, M.D.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Anesthesiology and Pain Medicine, <sup>2</sup>Anesthesia and Pain Research Institute, Yonsei University College of Medicine; <sup>3</sup>Department of Anesthesiology and Pain Medicine, Soonchunhyang University College of Medicine, Seoul, Korea

**Background:** A single agent administered is not effective enough to block nociception. Combination of agents acting through different mechanisms may be one of the best ways for better analgesic methods. The purpose of this study was to investigate the spinally mediated analgesic interaction between 5-HT<sub>3</sub> receptor agonist (m-CPBG) and NMDA receptor antagonist (MK801) in the rat formalin test.

**Methods:** A polyethylene catheter was inserted in the atlanto-occipital membrane to the thoracolumbar level of the spinal cord. On postoperative 7 day, the normal saline (n = 6), m-CPBG (10, 30, 100µg; n = 18) and MK801 (0.1, 1, 10µg; n = 18) were injected intrathecally before subcutaneous injection of 5% formalin. The combinations of each 1/2ED<sub>50</sub> + 1/2ED<sub>50</sub>, 1/4ED<sub>50</sub> + 1/4ED<sub>50</sub>, 1/8ED<sub>50</sub> + 1/8ED<sub>50</sub> were tested and the ED<sub>50</sub> of the combination was determined. The experimental ED<sub>50</sub> values were compared with the theoretical additive values.

**Results:** m-CPBG dose-dependently decreased the number of flinches in both phase 1 and 2. MK801 dose-dependently reduced the number of flinches in phase 2, but not in phase 1. The combination of m-CPBG and MK801 produced dose-dependent decreases of flinches on both phase 1 and 2. ED<sub>50</sub> values (2.75µg for m-CPBG and 0.076µg for MK801) of phase 2 in the combination were significantly less than the calculated additive values (20.0µg for m-CPBG and 0.55µg for MK801)(P < 0.01).

**Conclusions:** Intrathecally administered m-CPBG and MK801 had synergistic analgesic effects on formalin-induced hyperalgesia as well as antinociceptive effects in phase 1 on the rat formalin test. (Korean J Anesthesiol 2007; 52: 694~701)

**Key Words:** formalin test, interaction, m-CPBG, MK801.

## 서 론

논문접수일 : 2007년 3월 9일

책임저자 : 이윤우, 서울시 강남구 도곡동 146-92  
연세대학교 의과대학 영동세브란스병원 마취통증의학과  
우편번호: 135-720

Tel: 02-2019-3523, Fax: 02-3463-0940

E-mail: ywleepain@yumc.yonsei.ac.kr

본 연구는 연세대학교 의과대학 2004년도 교수연구비에 의하여 이루어졌음(과제번호: 2004-1099호).

본 논문은 2004년 대한마취과학회 추계학술대회에서 발표되었음.  
박사학위 논문임.

수술 후 통증이나 만성 통증 혹은 수술 중의 진통 효과를 위하여 경막외 혹은 척수강 내로 다양한 약물들이 투여된다. 아편양 제제나 국소 마취제를 비롯하여 α-adrenergic, cholinergic, γ-aminobutyric acid (GABA) 수용체 작용제 (agonist) 혹은 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 수용체 길항제 (antagonist) 등이 사용되며, 이러한 약물들은 척수의 다양한 수용체에서 각각 다른 기전을 통하여 진통 작용을 나타낸

다. 하지만 이러한 약물들은 임상적으로 다양한 부작용을 나타내며, 약제의 단독 투여로 부작용을 초래하지 않고 완전한 진통 작용을 얻기 어려운 제한 점이 있다. 이러한 부작용으로는 아편양 제제 사용 시 구역, 구토, 가려움증, 배뇨 장애 혹은 호흡 억제 등이 발생하며, 국소 마취제에서는 저혈압, 서맥 혹은 운동 장애 등이 발생한다.<sup>1)</sup> 약물들의 부작용을 경감시키기 위해 임상적으로 많은 치료 약제들이 사용되고 있으나, 그 효과 또한 명확하지는 않다.<sup>2)</sup> 이러한 제한점들을 극복하기 위해 종류가 다른 두 가지 이상 약물의 혼합 투여가 시도되고 있으며,<sup>3)</sup> 현재의 많은 관심과 연구의 대상이기도 하다.

본 연구에서 사용하고자 하는 포르말린 실험은 포르말린의 피하 주사에 의해 유발된 조직 손상과 염증 반응에 연관된 침해성 자극 및 통각 과민을 대표하는 실험 모델로서 전형적인 이상성(biphasic) 반응을 관찰할 수 있는 이점이 있다.<sup>4)</sup> 흰쥐의 발등에 포르말린을 피하 주사하면 통증으로 인한 움찔함(flinching), 흔들(shaking), 핥음(licking), 깨물(biting) 등의 독특한 행동을 관찰할 수 있으며, 그 중 움찔함 반응은 포르말린이 주입된 발을 자발적, 비수의적, 일시적으로 빠르게 들어 올리는 특이한 행동으로서 통증 지표로 채택되고 있다.<sup>5)</sup>

포르말린 주사 후 즉각적인 움찔함이 나타나는 제1기 반응은 구심성 Aδ와 C-섬유 말단의 통각 수용체가 강력히 활성화됨으로써 나타난다. 반응이 잠시 중단된 후 다시 60분 정도 지속되는 제2기 반응은 구심성 C-섬유가 반복적으로 자극을 받아 척수 후각 신경원에 존재하는 NMDA 수용체가 활성화되어 발생하는 wind-up 현상에 의해 중추 감각(central sensitization)이 일어나기 때문이다. 포르말린 실험에서 척수 후각 신경 세포 흥분에 의한 척수 감각으로 인한 통증은 사람에서 수술 후에 나타나는 통증과 유사하므로 지속적 술 후 통증 모델로서 널리 이용되고 있다.<sup>6,7)</sup>

Serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT)은 신경계의 다양한 범위에서 통증의 전달을 매개한다. 말초의 구심성 신경 섬유 말단에서는 염증 반응의 주요 매개체로서 신경 섬유를 자극하여 통증을 유발하지만, 중추에서는 중뇌수두주위 회백질(periaqueductal gray)과 솔기핵(nucleus raphe magnus)에서 척수 후각을 따라 하행하며 침해 자극을 억제하는 경로에 주요 역할을 한다.<sup>8)</sup> 중추 신경계에 존재하는 5-HT 수용체 유형 중 하나인 5-HT<sub>3</sub> 수용체는 구심성 신경 섬유 말단 부위인 척수 후각의 표면층에 주로 존재한다.<sup>9)</sup> Yoon 등은<sup>10)</sup> 5-HT<sub>3</sub> 수용체 작동제를 척수강 내로 투여 시 포르말린 실험의 제1기와 제2기에서 통증 행동 반응을 모두 용량 의존적으로 억제함을 보여주어 급성 침해 자극 및 감각 상태에 의한 통증을 경감시키는데 효과가 있음을 증명하였다.

침해 자극으로 인한 중추 감각은 NMDA 수용체의 활성

화와 관련이 있다. NMDA 수용체 길항제는 정상적인 신경 전달을 억제하지 않으므로 급성 침해 자극에 대한 진통 효과는 없지만, 척수 후각 신경원에서의 감각이 일어나지 못하게 함으로써 신경병증 통증의 예방이나 만성 통증 혹은 술 후 진통 작용에 효과적인 역할을 한다.<sup>11-13)</sup> 하지만 NMDA 수용체 길항제는 항침해 효과와 동시에 운동 장애를 수반하는 부작용이 있어 임상에서 안전하게 사용하기에는 제한점이 있으므로<sup>14)</sup> 혼합 투여 시 상승 작용을 나타낼 수 있는 약물들에 대한 연구가 더욱 필수적이라 할 수 있다.

수술이나 외상 등으로 조직 손상이 일어나면 말초와 중추에서 통증에 대한 반응이 일어나는데, 말초에서는 통각 수용체의 감각으로 구심성 신경 섬유의 역치가 감소하며, 중추에서는 척수 후각 신경 세포의 감각에 의해 척수 신경의 흥분성이 증가하게 된다. 이 두 가지 반응은 흔히 함께 일어나며 수술 후 통각 과민 상태를 형성하게 되는데,<sup>15)</sup> 이들 말초 및 중추 감각을 수술 전에 예방함으로써 술 후 통증을 감소시키는 선행 진통법이 임상적으로도 효과를 얻고 있다.

본 연구에서 사용하고자 하는 5-HT<sub>3</sub> 수용체 작동제와 NMDA 수용체 길항제는 척수강 내로 투여 시 통증 전달을 차단한다고 알려져 있지만, 현재까지 어떠한 실험 모델에서도 두 약물을 혼합 투여하여 그 상호 작용에 대해 보고된 바는 없다. 본 연구에서는 흰쥐를 이용한 포르말린 실험을 통하여 NMDA 수용체 길항제와 5-HT<sub>3</sub> 수용체 작동제를 척수강 내로 각각 투여 시 제1기와 2기 반응을 효과적으로 감소시키는지의 여부와 이 때 발생하는 부작용을 관찰하고 두 약물을 혼합 투여 시 어떠한 상호 작용을 나타내는지 isobolographic analysis를 이용하여 알아보하고자 하였다.

## 대상 및 방법

몸무게 250-300 g의 수컷 Sprague-Dawley 쥐를 대상으로 하여 실험 전 물과 먹이를 자유롭게 섭취할 수 있는 상자에 넣어 3일 이상 사육실에서 주위 환경에 적응시켰다. 실험실은 12시간 동안 빛을 받고 12시간 동안 어둡게 조절하였다. 100% 산소와 5 vol% enflurane이 분당 1리터로 흐르는 투명한 마취유도 상자에 실험 쥐를 넣은 후 움직임이 없다면 쥐를 꺼내 마스크를 씌우고 자발 호흡을 유지시키면서 100% 산소와 2-3 vol% enflurane으로 마취 상태를 유지하였다. 쥐를 뇌정위 장치에 고정하고 후두경부의 정중선을 따라 피부를 절개하여 근육을 분리한 다음 후두골과 제 1 경추 사이 환추후두막이 노출되도록 하였다. 23 G 바늘 끝으로 경막을 절개하고 척수액이 나오는 것을 확인 후, polyethylene (PE-10, Becton Dickinson, USA) 카테터를 8 cm 하방까지 삽입하여 카테터 끝이 요부 확장부에 위치하도록

하였다. 카테터의 다른 끝은 피하를 통하여 두개골 상부에 고정하고 피부 절개 부위를 봉합 후 마취에서 각성시켰다. 카테터 삽입 후 7일 동안 물과 먹이를 자유롭게 섭취하도록 하면서 신경학적 손상을 보이는 쥐와 정상적으로 몸무게가 증가하지 않는 쥐는 실험에서 제외하였다. 카테터 거치 후 7일째 되는 날 포르말린 자극 실험을 하였으며, 실험 시작 1시간 전에 관찰이 용이한 투명한 유리 상자에 넣어 쥐가 환경에 익숙해지도록 하였다. 실험실 온도는 24-25°C로 유지하였다.

약제는 5-HT<sub>3</sub> 수용체 작동제인 1-(m-chlorophenyl) biguanide hydrochloride (m-CPBG, Sigma Chemical Co., USA)와 NMDA 수용체 길항제인 (+)-MK801 hydrogen maleate (MK801, Sigma Chemical Co., USA)를 사용하며, 각각 투여 용량이 10µl가 되도록 생리식염수에 용해시켜 만들었다.

흰쥐를 대조군(생리식염수: n = 6), m-CPBG군(10, 30, 100 µg: n = 18) 혹은 MK801군(0.1, 1, 10µg: n = 18)으로 무작위로 나누어 각각의 약물을 Hamilton 주사기(Hamilton micro-liter syringe, Hamilton Co., USA)를 이용하여 30초에 걸쳐 서서히 척수강 내로 투여하였다. 모든 군에서 카테터의 사강 용적을 고려하여 약물 주입 후 생리식염수 10µl를 추가로 주입하였다. 약물 투여 10분 후 5% 포르말린 50µl를 26 G 바늘을 사용하여 쥐의 왼쪽 뒤 발등에 재빨리 피하 주사하였다.

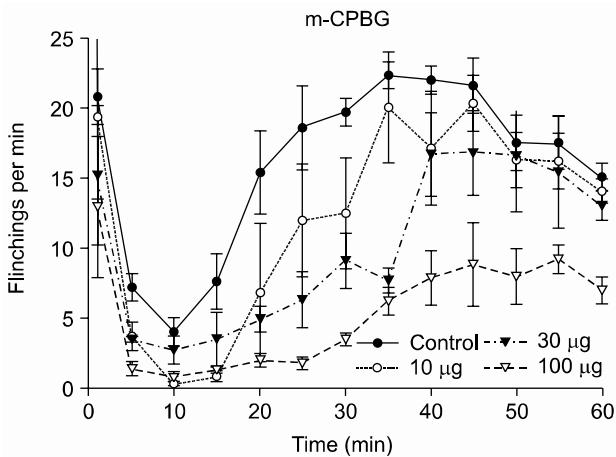
포르말린은 formaldehyde 용액(Sigma Chemical Co., USA)을 희석하여 5% 농도로 만들었다. 포르말린을 주사한 측의 발을 자발적으로 바닥에서 들었다 놔다 하는 움찔함을 통

증 반응으로 기록하며 들어올린 채로 흔들도 1회의 움찔함으로 간주하였다. 첫 1분 이후에 5분 간격으로 1분간씩 60분간 횡수를 측정하였다. 처음 1분에서 10분까지를 제1기 반응으로, 10분에서 60분까지를 제2기 반응으로 나누어 통증 반응을 평가하였다. 실험이 끝난 모든 쥐는 enflurane 흡입마취하에 과량의 thiopental sodium을 복강 내로 주사하여 안락사시켰다.

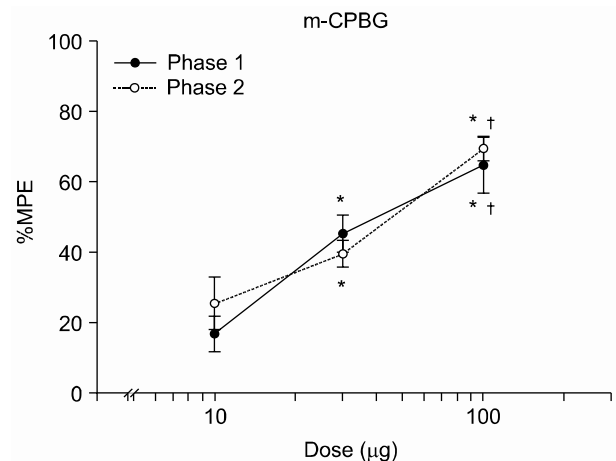
선형회귀분석(linear regression analysis)을 이용하여 용량 반응 관계를 알아보고 용량 반응 곡선을 이용하여 각 약물의 ED<sub>50</sub>를 구하였다. 용량 반응 곡선에서의 반응은 움찔함 횟수의 총합계로 하였고 각각의 약물의 ED<sub>50</sub>를 구하기 위하여 최대가능효과 백분율(%maximal possible effect, %MPE)을 다음의 공식을 이용하여 구하였다.<sup>16)</sup>

$$\%MPE = \frac{(\text{대조군에서 움찔함 수} - \text{약물 투여군에서 움찔함 수})}{\text{대조군에서 움찔함 수}} \times 100$$

혼합 약물의 상호 작용을 관찰하기 위해 두 약물의 제2기에서의 ED<sub>50</sub>를 이용하여 1/2ED<sub>50</sub> + 1/2ED<sub>50</sub>, 1/4ED<sub>50</sub> + 1/4ED<sub>50</sub>, 1/8ED<sub>50</sub> + 1/8ED<sub>50</sub>에 해당하는 용량을 10µl가 되도록 혼합하였다. 약물을 흰쥐의 척수강 내로 투여 후 생리식염수 10µl를 추가로 투여하여 포르말린 실험을 하였고, 혼합 투여한 약물에 대한 용량 반응 관계 및 ED<sub>50</sub>를 구하였다. 이론적인 첨가 작용을 나타내는 이론치 ED<sub>50</sub>는 각각의 약물의 1/2ED<sub>50</sub>에 해당하는 용량으로 계산하였다. 약물들의 상호 작용에 의한 효과를 평가하기 위해 isobologram을 이용하였고, total fraction value를 다음의 공식을 이용하



**Fig. 1.** Time-effect curve of intrathecal m-CPBG administered 10 min before injection of formalin. The number of flinchings per minute is plotted versus the time after the formalin injection into the dorsal surface of the left hind paw. m-CPBG dose-dependently decreases the number of flinchings in both phase 1 and phase 2. Each line on the graph represents mean ± SEM of six rats.



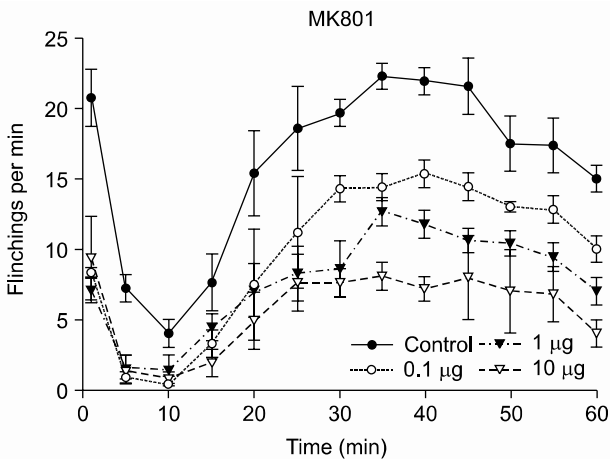
**Fig. 2.** Dose-response curves for intrathecally administered m-CPBG, expressed as percent maximal possible effect (%MPE) during the phase 1 and phase 2 response of the formalin test. Each line represents mean ± SEM of six rats. \*: P < 0.05 vs 10µg, †: P < 0.05 vs 30µg.

여 구하였다.<sup>17)</sup>

Total fraction value = (ED<sub>50</sub> of drug 1 combined with drug 2/ED<sub>50</sub> for drug 1 given alone) + (ED<sub>50</sub> of drug 2 combined with drug 1/ED<sub>50</sub> for drug 2 given alone)

Total fraction value가 1에 가까우면 첨가(additive) 작용, 1보다 크면 길항(antagonistic) 작용, 작으면 상승(synergistic) 작용이 있는 것으로 판단하였다. 또한 각 약물에 대한 운동 장애 유무와 보행반사(steepling reflex)를 평가하였다.

모든 측정값은 평균 ± 표준오차로 표시하였다. 용량 반응 곡선에서의 각 용량에 따른 반응의 정도는 ANOVA test를 이용하였고, 이론적인 첨가 작용을 나타내는 이론치 ED<sub>50</sub>와 실험치 ED<sub>50</sub> 간에는 Student's t-test를 이용하여 비교하여, P값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의하다고 판단하였다.



**Fig. 3.** Time-effect curve of intrathecal MK801 administered 10 min before injection of formalin. The number of flinchings per minute is plotted versus the time after the formalin injection into the dorsal surface of the left hind paw. MK801 dose-dependently reduces the number of flinchings in phase 2, but not in phase 1. Each line on the graph represents mean ± SEM of six rats.

**Table 1.** ED<sub>50</sub> (50% Effective Dose) Values (µg)

	Each single agent		m-CPBG + MK801	
	Phase 1	Phase 2	Phase 1	Phase 2
m-CPBG	37.8 (8.6-166.7)	40.0 (24.6-67.0)	0.55* (0.03-8.99)	2.75* (1.23-6.11)
MK801	N/A	1.1 (0.37-3.05)	0.015 <sup>†</sup> (0.009-0.24)	0.076* (0.021-0.169)

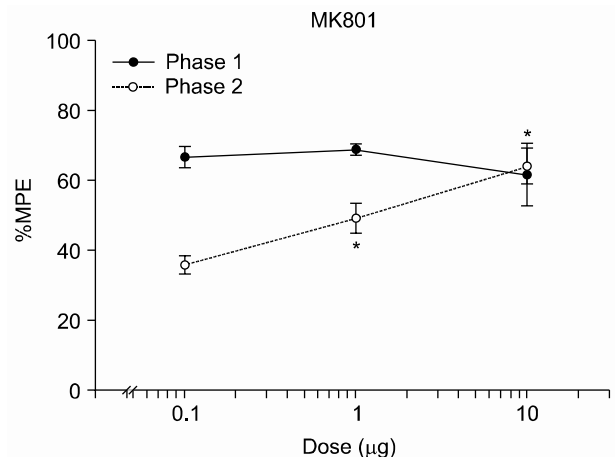
In the parenthesis, 95% confidence intervals are shown. \*: P < 0.01 vs the values at each single agent, <sup>†</sup>: not comparable. N/A: not available.

**결 과**

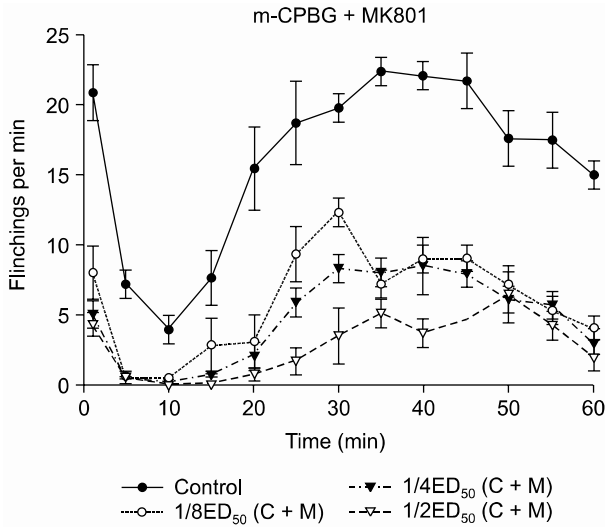
대조군에서는 포르말린 주입 직후 움찔함이 활발히 나타나다가 10분에 현저히 감소하였으며 이후 다시 증가하여 35-45분에 최고치에 도달한 후 60분까지 서서히 감소하였다. m-CPBG 투여군에서는 제1기와 2기 반응 모두에서 용량 의존적으로 움찔함이 감소하였고, 100µg을 투여한 쥐에서는 움찔함 감소 효과가 1시간 동안 지속되었다(Fig. 1, 2).

MK801 투여군에서는 제1기 반응에서는 세 용량 모두 대조군에 비해 움찔함이 감소하였으나 용량 의존적이지는 않았으며, 2기 반응에서는 움찔함이 용량에 비례하여 감소하였다 (Fig. 3, 4).

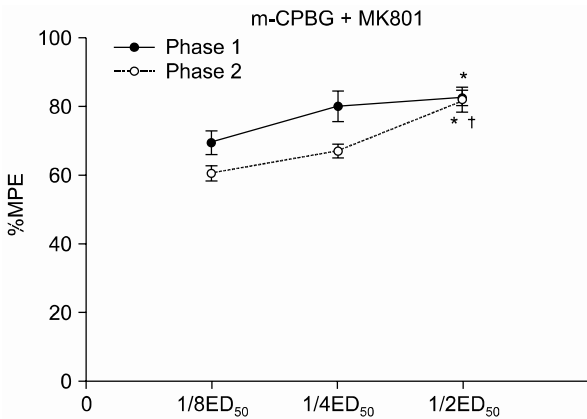
각각의 약물의 ED<sub>50</sub>는 Table 1과 같았다. m-CPBG와 MK801 혼합 투여군에서는 제1기와 2기 모두에서 용량 의존적으로 움찔함이 감소하였으며(Fig. 5, 6), 제2기 반응의 isobolographic analysis상 실험치 ED<sub>50</sub>가 이론치 ED<sub>50</sub>보다 유의하게 좌측 하방으로 이동하였고(P < 0.01)(Fig. 7), total fraction



**Fig. 4.** Dose-response curves for intrathecally administered MK801, expressed as percent maximal possible effect (%MPE) during the phase 1 and phase 2 response of the formalin test. Each line represents mean ± SEM of six rats. \*: P < 0.05 vs 0.1µg.



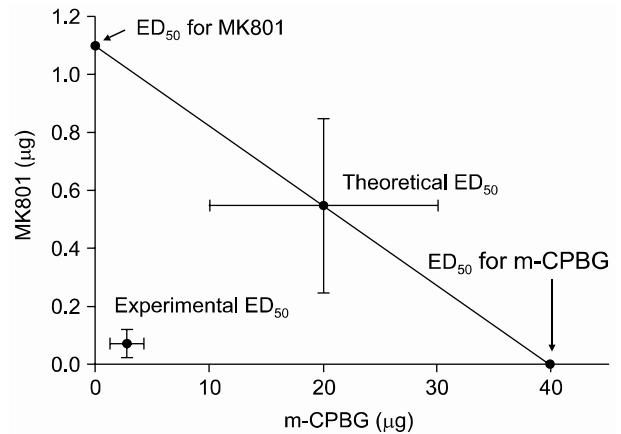
**Fig. 5.** Time-effect curve of intrathecal m-CPBG and MK801 administered 10 min before injection of formalin. The number of flinchings per minute is plotted versus the time after the formalin injection into the dorsal surface of the left hind paw. m-CPBG and MK801 dose-dependently decrease the number of flinchings in both phase 1 and phase 2. Each line on the graph represents mean  $\pm$  SEM of six rats. C: m-CPBG, M: MK801.



**Fig. 6.** Dose-response curves for intrathecally administered m-CPBG and MK801, expressed as percent maximal possible effect (%MPE) during the phase 1 and phase 2 response of the formalin test. Each line represents mean  $\pm$  SEM of six rats. \*:  $P < 0.05$  vs  $1/8ED_{50}$ , †:  $P < 0.05$  vs  $1/4ED_{50}$ .

value는 0.14이었다.

m-CPBG 투여군에서는 어떠한 용량에서도 운동장애나 보행반사 이상을 초래하지 않았으나, MK801 투여군에서는 10 $\mu$ g을 투여한 쥐 6마리 중 2마리에서 투여 직후 양쪽 뒷다리의 마비로 인한 운동장애와 보행반사의 소실이 관찰되었으며, 5-10분이 지나서는 정상 보행이 가능해졌다. m-CPBG



**Fig. 7.** Isobologram for the intrathecal interaction of m-CPBG and MK801 during phase 2 on the formalin test. Horizontal and vertical bars indicate SEM. The oblique line between the x-axis and y-axis is the theoretical additive line. The point in the middle of this line is the theoretical additive point (theoretical  $ED_{50}$ ) calculated from the separate  $ED_{50}$  values. The experimental  $ED_{50}$  lies far below the additive line ( $P < 0.01$ ), indicating a significant synergism.

와 MK801 혼합 투여군에서는 어떠한 쥐에서도 운동기능 이상 및 기타 부작용이 관찰되지 않았다.

## 고찰

본 연구에서 m-CPBG와 MK801의 척수강 내로의 혼합 투여는 용량에 비례하여 급성 침해성 통증을 감소시킬 뿐 아니라 중추 감각에 의한 통각 과민을 경감시키는 상승 효과를 나타내고 약물 단독 투여 시의 부작용을 경감시킬 수 있었다.

Serotonin은 말초에서는 주요한 염증 반응의 매개물로서 구심성 신경 섬유를 자극하여 통증을 전달하지만, 중추에서는 norepinephrine과 더불어 뇌간(brain stem)의 여러 부위, 즉 중뇌수도주위 회백질, 솔기핵과 청반(locus ceruleus) 등에서 기인하여 척수의 후측삭(dorsal lateral funiculus)을 따라 하행하며 통증을 억제하는 경로에 주요한 역할을 한다. 중뇌수도 주위 회백질과 솔기핵에 전기적인 자극을 가하게 되면 내인성 serotonin이 국소적으로 분비되면서 진통 효과를 나타내며, 이러한 진통 효과는 serotonin 길항제의 투여나 하행성 경로를 차단 시 가역된다.<sup>18)</sup> 쥐의 척수강 내로 투여된 serotonin은 기계적 자극, 온냉 자극, 화학적 자극으로 유발되는 통증 경감에 모두 효과적이며, 특히 기계적 자극에 대한 진통 효과가 탁월하다.<sup>19)</sup>

Serotonin 수용체의 유형은 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub>와 5-HT<sub>4</sub> 등으로 최소한 4가지 이상이며, 또한 각각의 아형들이 존재한다.<sup>20,21)</sup> 이러한 각각의 아형들은 척수강 내 투여 시 침해

자극에 대한 효과가 다양하게 나타나며, 때로는 서로 상반되게 나타나기도 한다. 이런 다양한 결과들은 척수 내 serotonin 체계의 복잡성과 serotonin 수용체가 침해수용기 외에도 운동과 혈관 긴장도 조절에 관여함으로써 자극 시 나타나는 반응 양상에 영향을 미칠 수 있으며, 그 외에도 침해 자극의 다양성, 실험 약물의 종류와 용량의 차이 등에 의해서도 서로 다른 결과를 나타낼 수 있다.<sup>22-25)</sup>

척수강 내로 투여한 5-HT<sub>3</sub> 작동제는 전기 생리학적 연구나 행동학적 검사에서 용량에 비례하여 항침해 효과를 나타내며 5-HT<sub>3</sub> 수용체가 serotonin 수용체 중에서 주요한 통증 조절을 하는 수용체로 알려져 있지만,<sup>26-29)</sup> 일부 연구에서는 효과가 없거나<sup>30)</sup> 침해 반응을 오히려 증가시킨다는 보고도 있다.<sup>31)</sup> 본 연구에서는 척수강 내로 투여한 m-CPBG가 용량 의존적으로 포르말린 검사의 제1기와 2기 반응의 움찔함을 효과적으로 감소시켰고, 1기와 2기의 ED<sub>50</sub>가 차이가 없었으므로 척수 내에서의 5-HT<sub>3</sub> 작동제는 급성 침해성 통증과 척수 감각으로 발생하는 통증 모두를 효과적으로 감소시킬 수 있음을 알 수 있었다.

5-HT<sub>3</sub> 수용체는 흥분성 ligand-gated 양이온 통로 수용체로서 다른 5-HT 수용체인 G단백질 결합 수용체들과는 구조적으로 다르고, 탈분극에 의한 흥분 시 interneuron을 통하여 GABA 수용체와 같은 억제성 신경원을 자극하여 진통 효과를 나타내며,<sup>32)</sup> 직, 간접적으로 GABA 신경원과 연결되어 있다.<sup>33)</sup> 척수의 후각에서 GABA 수용체는 일차 구심성 신경 말단에서의 흥분을 억제하여 척수 내 이차 신경원으로서의 흥분성 신경 전달 물질의 분비를 감소시킨다.<sup>34)</sup> 5-HT<sub>3</sub> 수용체의 자극은 GABA<sub>B</sub> 수용체보다는 GABA<sub>A</sub> 수용체를 더 활성화시키며, 이 때 유리된 GABA는 NMDA 활성화에 기인하는 통증을 효과적으로 억제시킨다.

NMDA에 의해 유발되는 통증은 주로 GABA<sub>A</sub> 수용체에 의해 조절되며 substance P에 의한 통증은 GABA<sub>B</sub> 수용체가 관여하게 된다.<sup>35,36)</sup> GABA<sub>A</sub> 수용체의 활성화는 glutamate의 분비를 감소시키고, NMDA 수용체 길항제는 분비된 glutamate가 수용체에 결합하는 것을 방해함으로써 침해성 자극 전달 과정에서 서로 기능적 상호 작용을 한다. 포르말린과 열 자극 실험에서 GABA<sub>A</sub> 수용체 작동제와 NMDA 수용체 길항제의 척수강 내 동시 투여는 부작용을 감소시키며 진통 효과를 상승시킨다.<sup>37,38)</sup>

Glutamate는 대표적인 흥분성 amino acid로서, 일차 구심성 섬유나 interneuron에 존재하며, 침해성 자극을 전달하는 매개체이다.<sup>39)</sup> Glutamate 수용체는 크게 NMDA 수용체와 non-NMDA 수용체(AMPA 수용체)로 나뉜다. NMDA 수용체는 척수 후각의 광활동 영역 신경원(wide dynamic range neuron)에 존재하며, 구심성 C-섬유의 지속적 자극 시 형성되는 wind-up 현상에 관여함으로써 중추 감각의 유도나 유지에

매우 중요하다. 침해성 자극이 말초에 반복적으로 가해지면 척수의 연접부 전부위에서 glutamate가 다량 유리되어 AMPA 수용체가 활성화되고 이후 발생한 연접부 후막 전위에 의해 NMDA 수용체의 이온 통로를 막고 있던 Mg<sup>2+</sup> 차단 효과가 감소하면 NMDA 수용체가 활성화된다. NMDA 수용체의 활성화는 세포 내 칼슘 유입, 유전자 발현, nitric oxide (NO) synthetase 활성화 및 NO 분비를 촉진시키고, 보다 많은 AMPA 수용체를 활성화시키며 세포 흥분을 증폭시킬 뿐 아니라 많은 신경 전달 물질이 연접부 전부위에서 분비되도록 후향적으로 작용한다. 반복적인 유해 자극 후 NMDA 수용체의 활성화로 중추 감각이 나타나는 현상은 포르말린 검사에서의 2기 반응과 같다.<sup>13,40)</sup>

NMDA 수용체 길항제는 중추 감각에 의해 유발된 통증 완화에 효과적인 반면,<sup>41)</sup> AMPA 수용체 길항제는 급성 침해성 통증을 경감시키는 데 효과적이다.<sup>42)</sup> NMDA 수용체 길항제는 반복되는 지속적인 자극 억제 효과에는 우수하나, 고농도를 제외하고는 급성 통증에 대해 진통 효과가 적다. Yamamoto와 Yaksh는<sup>43)</sup> 포르말린 검사에서 MK801의 전처치는 제1기와 2기 모두에서 용량 비례적으로 움찔함을 감소시키나, 2기의 ED<sub>50</sub>에 비해 1기의 ED<sub>50</sub>가 10배 이상 크기 때문에 급성 침해성 통증 완화에는 효과가 적음을 설명하였다. 또한 NMDA 수용체 길항제는 항침해 효과와 동시에 운동장애를 수반하는 부작용이 있어 임상에서 안전하게 사용하기에는 제한점이 있으며<sup>11,14)</sup> 본 연구에서도 10µg MK801을 투여한 6마리의 쥐에서 2마리가 5-10분간의 운동 기능 이상을 초래하여, 그 이상의 용량을 사용할 수가 없었다. 본 연구에서는 MK801의 단독 투여 시에는 포르말린 1기 반응에서의 용량 의존 관계를 볼 수가 없었고 그 때의 ED<sub>50</sub>를 구할 수가 없었다. 이로 인해 1기 반응에서의 m-CPBG와 MK801의 상호 작용 효과는 알 수 없었고, 급성 침해성 통증에도 두 약물이 상승 효과를 나타낼지에 대해서는 앞으로 연구가 필요할 것이다.

통증은 단순히 하나의 수용체나 신경 전달 물질에 의해서 매개되지 않고 복합적인 여러 기전을 통하여 발생하므로 단일 약제로서 완전한 진통 효과를 기대하기 힘들 뿐 아니라 통증에 관여하는 수용체나 신경 전달 물질은 중추 신경계에서 통증 이외의 다른 원치 않는 효과를 나타내는 신경 구조들과도 연결되어 있기 때문에 부작용을 초래할 수 있다.<sup>37)</sup>

두 약물을 동시에 투여하였을 때 상승, 첨가 혹은 길항 작용이 나타날 수 있으며, 상승 작용이나 첨가 작용을 나타내는 약물들의 혼합 투여는 각각의 약물의 용량을 감소하여 사용할 수 있으므로 진통 효과를 위해 단독 투여 시 발생할 수 있는 부작용을 줄여줄 수 있는 이점이 있다.<sup>3)</sup> 두 종류의 약물이 상호 작용을 나타내는 기전으로는 한 약물

이 다른 약물의 약동학적인 측면 즉, 흡수, 분포, 대사 및 배설에 영향을 미쳐 작용 부위에서의 약물 농도를 높여 상승 효과를 나타내거나, 서로 다른 수용체이지만 동일한 이온 통로 등을 공유함으로써 세포 내부에서는 공통된 2차 전달 물질을 매개함으로써,<sup>44)</sup> 혹은 연결부 전부와 연결부 후부와 같이 해부학적으로 떨어진 작용 부위에서 독립적으로 증강 작용을 함으로써 가능하다.<sup>45)</sup>

본 연구에서 척수강 내로 투여한 5-HT<sub>3</sub> 수용체 작용제와 NMDA 수용체 길항제는 작용 부위가 서로 독립적으로 다르지만, 5-HT<sub>3</sub> 수용체의 활성화는 interneuron을 통한 GABA 분비를 증가시키고, NMDA 수용체 길항제는 기능적으로 GABA 수용체와 상호 작용을 하는 점으로 미루어 GABA 수용체의 활성화가 진통 작용의 상승 효과에 일부 기여하였을 것으로 추측된다. 이러한 결과는 척수강 내 5-HT<sub>3</sub> 수용체 작용제와 NMDA 수용체 길항제를 척수강 내가 아닌 전신 투여 시도 같은 효과를 나타내지는 알 수 없다. 5-HT가 말초의 구심성 신경 섬유 말단에서는 중추에서와는 다르게 신경 섬유를 자극하여 통증을 유발하는 매개체로 작용하기 때문에 5-HT<sub>3</sub> 작용제를 척수강 내로 투여하지 않고 전신적으로 투여할 경우에는 통증에 어떠한 영향을 미칠지는 많은 연구가 필요할 것이다. 또한 약물의 상호 작용 효과는 실험 방법과 자극의 강도 등에 의해서도 영향을 받으므로<sup>46,47)</sup> 저자들이 사용한 포르말린을 이용한 통증 모델 이외의 다른 종류의 통증 실험에서의 상호 작용에 대한 연구도 필요할 것으로 생각한다.

### 참 고 문 헌

1. Cousins MJ, Mather LE: Intrathecal and epidural administration of opioids. *Anesthesiology* 1984; 61: 276-310.
2. Tramer MR, Walder B: Efficacy and adverse effects of prophylactic antiemetics during patient-controlled analgesia therapy: a quantitative systematic review. *Anesth Analg* 1999; 88: 1354-61.
3. Hao S, Takahata O, Iwasaki H: Antinociceptive interaction between spinal clonidine and lidocaine in the rat formalin test: an isobolographic analysis. *Anesth Analg* 2001; 92: 733-8.
4. Dubuisson D, Dennis SG: The formalin test: a quantitative study of analgesic effects of morphine, meperidine and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain* 1977; 4: 161-74.
5. Lee IO, Kong MH, Kim NS, Choi YS, Lim SH, Lee MK: Effects of different concentrations and volumes of formalin on pain response in rats. *Acta Anaesthesiol Sin* 2000; 38: 59-64.
6. Wheeler-Aceto H, Porreca F, Cowan A: The rat paw formalin test: comparison of noxious agents. *Pain* 1990; 40: 229-38.
7. Saddi G, Abbott FV: The formalin test in the mouse: a parametric analysis of scoring properties. *Pain* 2000; 89: 53-63.
8. Alhaider AA, Lei SZ, Wilcox GL: Spinal 5-HT<sub>3</sub> receptor-mediated antinociception: possible release of GABA. *J Neurosci* 1991; 11:

- 1881-8.
9. Hamon M, Gallissot MC, Menard F, Gozlan H, Bourgoin S, Verge D: 5-HT<sub>3</sub> receptor binding sites are on capsaicin-sensitive fibres in the rat spinal cord. *Eur J Pharmacol* 1989; 164: 315-22.
10. Yoon MH, Kim YO, Jeong SW: Antinociceptive effects of intrathecal 5-hydroxytryptamine and its subtype agonists in the formalin test. *Korean J Anesthesiol* 2002; 42: 542-50.
11. Dickenson AH, Aydar E: Antagonism at the glycine site on the NMDA receptor reduces spinal nociception in the rat. *Neurosci Lett* 1991; 121: 263-6.
12. Dickenson AH, Sullivan AF: Differential effects of excitatory amino acid antagonists on dorsal horn nociceptive neurons in the rat. *Brain Res* 1990; 506: 31-9.
13. Lee YW: Spinal N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) receptor and pain modulation. *Korean J Anesthesiol* 1998; 34: 881-9.
14. Carter AJ: Many agents that antagonize the NMDA receptor-channel complex in vivo also cause disturbances of motor coordination. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 269: 573-80.
15. Woolf CJ, Chong MS: Preemptive analgesia-treating postoperative pain by preventing the establishment of central sensitization. *Anesth Analg* 1993; 77: 362-79.
16. Chaplan SR, Malmberg AB, Yaksh TL: Efficacy of spinal NMDA receptor antagonism in formalin hyperalgesia and nerve injury evoked allodynia in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 280: 829-38.
17. Roerig SC, Fujimoto JM: Morphine antinociception in different strains of mice: relationship of supraspinal-spinal multiplicative interaction to tolerance. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 247: 603-8.
18. Peng YB, Lin Q, Willis WD: The role of 5-HT<sub>3</sub> receptors in periaqueductal gray-induced inhibition of nociceptive dorsal horn neurons in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 276: 116-24.
19. Bardin L, Bardin M, Lavarenne J, Eschaliere A: Effect of intrathecal serotonin on nociception in rats: influence of the pain test used. *Exp Brain Res* 1997; 113: 81-7.
20. Hoyer D, Clarke DE, Fozard JR, Hartig PR, Martin GR, Mylecharane EJ, et al: International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacol Rev* 1994; 46: 157-203.
21. Barnes NM, Sharp T: A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 1999; 38: 1083-152.
22. Eide PK, Tjolsen A: Effects of serotonin receptor antagonists and agonists on the tail-flick responses in mice involve altered tail-skin temperature. *Neuropharmacology* 1988; 27: 889-93.
23. Kuraishi Y, Hirota N, Satoh M, Takagi H: Antinociceptive effects of intrathecal opioids, noradrenaline and serotonin in rats: mechanical and thermal algic tests. *Brain Res* 1985; 326: 168-71.
24. Millan MJ, Bervoets K, Colpaert FC: 5-HT<sub>1A</sub> receptors and the tail-flick response. I. 8-OH-DPAT-induced spontaneous tail-flicks in the rat as an in vivo model of 5HT<sub>1A</sub> receptor-mediated activity. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 256: 973-82.
25. Murphy AZ, Murphy RM, Zemlan FP: Role of spinal serotonin 1 receptor subtypes in thermally and mechanically elicited nociceptive reflexes. *Psychopharmacology* 1992; 108: 123-30.

26. Bardin L, Jourdan D, Alloui A, Lavarenne J, Eschalier A: Differential influence of two serotonin 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists on spinal serotonin-induced analgesia in rats. *Brain Res* 1997; 765: 267-72.
27. Giordano J: Analgesic profile of centrally administered 2-methylserotonin against acute pain in rats. *Eur J Pharmacol* 1991; 199: 233-6.
28. Glaum SR, Proudfit HK, Anderson EG: Reversal of the antinociceptive effects of intrathecally administered serotonin in the rat by a selective 5HT<sub>3</sub> receptor antagonist. *Neurosci Lett* 1988; 95: 313-7.
29. Glaum SR, Proudfit HK, Anderson EG: 5-HT<sub>3</sub> receptors modulate spinal nociceptive reflexes. *Brain Res* 1990; 510: 12-6.
30. Xu W, Qiu XC, Han JS: Serotonin receptor subtypes in spinal antinociception in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 269: 1182-9.
31. Ali Z, Wu G, Kozlov A, Barasi S: The role of 5HT<sub>3</sub> in nociceptive processing in the rat spinal cord: results from behavioural and electrophysiological studies. *Neurosci Lett* 1996; 208: 203-7.
32. Kawamata T, Omote K, Toriyabe M, Yamamoto H, Namiki A: The activation of 5HT<sub>3</sub> receptors evokes GABA release in the spinal cord. *Brain Res* 2003; 978: 250-5.
33. Kawamata T, Omote K, Toriyabe M, Kawamata M, Namiki A: Intracerebroventricular morphine produces antinociception by evoking  $\gamma$ -aminobutyric acid release through activation of 5-hydroxytryptamine 3 receptors in the spinal cord. *Anesthesiology* 2002; 96: 1175-82.
34. Haefely WE: Benzodiazepines. *Int Anesthesiol Clin* 1988; 26: 262-72.
35. Aanonsen LM, Wilcox GL: Muscimol,  $\gamma$ -aminobutyric acidA receptors and excitatory amino acids in the mouse spinal cord. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 248: 1034-8.
36. Hwang AS, Wilcox GL: Baclofen, GABAB receptors and substance P in the mouse spinal cord. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 248: 1026-33.
37. Nishiyama T, Gyermek L, Lee C, Kawasaki-Yatsugi S, Yamaguchi T: Analgesic interaction between intrathecal midazolam and glutamate receptor antagonists on thermal-induced pain in rats. *Anesthesiology* 1999; 91: 531-7.
38. Nishiyama T, Gyermek L, Lee C, Kawasaki-Yatsugi S, Yamaguchi T: Synergistic analgesic effects of intrathecal midazolam and NMDA or AMPA receptor antagonists in rats. *Can J Anaesth* 2001; 48: 288-94.
39. Battaglia G, Rustioni A: Coexistence of glutamate and substance P in dorsal root ganglion neurons of the rat and monkey. *J Comp Neurol* 1988; 277: 302-12.
40. Dickenson AH, Sullivan AF: Subcutaneous formalin-induced activity of dorsal horn neurons in the rat: differential response to an intrathecal opiate administered pre or post formalin. *Pain* 1987; 30: 349-60.
41. Nasstrom J, Karlsson U, Post C: Antinociceptive actions of different classes of excitatory amino acid receptor antagonists in mice. *Eur J Pharmacol* 1992; 212: 21-9.
42. Dougherty PM, Palecek J, Paleckova V, Sorokin LS, Willis WD: The role of NMDA and non-NMDA excitatory amino acid receptors in the excitation of primate spinothalamic tract neurons by mechanical, chemical, thermal and electrical stimuli. *J Neurosci* 1992; 12: 3025-41.
43. Yamamoto T, Yaksh TL: Comparison of the antinociceptive effects of pre-and posttreatment with intrathecal morphine and MK801, an NMDA antagonist, on the formalin test in the rat. *Anesthesiology* 1992; 77: 757-63.
44. Berenbaum MC: What is synergy? *Pharmacol Rev* 1989; 41: 93-141.
45. Roerig SC, Fujimoto JM: Multiplicative interaction between intrathecally and intracerebroventricularly administered mu opioid agonists but limited interactions between delta and kappa agonists for antinociception in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 249: 762-8.
46. Gessner PK: Isobolographic analysis of interactions: an update on applications and utility. *Toxicology* 1995; 105: 161-79.
47. Kissin I, Stanski DR, Brown PT, Bradley EL Jr: Pentobarbital-morphine anesthetic interactions in terms of intensity of noxious stimulation required for arousal. *Anesthesiology* 1993; 78: 744-9.