

절개통증모델에서 복강 및 척수강내로 투여된 AMPA/KA 수용체 길항제 LY293558의 효과

가톨릭대학교 의과대학 마취과학교실

이 해 진

= Abstract =

Effects of Systemic and Intrathecal AMPA/KA Receptor Antagonist LY293558 in a Rat Model for Postoperative Pain

Hae-Jin Lee, M.D.

Department of Anesthesiology, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Background: Intraperitoneal (IP) and intrathecal (IT) administration of α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic (AMPA) and kainate (KA) receptor antagonist attenuate hyperalgesia in various models of persistent pain. The purpose of this study was to assess the effects of IP and IT LY293558, a novel AMPA/KA receptor antagonist on mechanical hyperalgesia after incision.

Methods: Sprague-Dawley rats were anesthetized with halothane and underwent plantar incision. Two hours later, responses to mechanical stimuli were assessed using the response frequency to a nonpunctate mechanical stimulus and withdrawal threshold to calibrated von Frey filaments. One group of rats received vehicle, 5 or 10 mg/kg of LY293558 IP. In the other group, vehicle, 0.2, 0.5 or 2 nmol of LY293558 was administered IT. Ataxia and motor function were also evaluated.

Results: Hyperalgesia was persistent in both the vehicle and 5 mg/kg group. IP administration of 10 mg/kg of LY293558 increased withdrawal threshold at 30 and 60 min after incision; deficits in rotorod performance were observed at 30, 60, 90 and 150 min. IT administration of 0.5 nmol of LY293558 increased the median withdrawal threshold at 30 and 60 min. Motor function was only impaired at 30 min. IT administration of 2 nmol produced hemiparesis. Again, inhibition of pain behaviors outlasted the effects on motor function.

Conclusions: These data further suggest AMPA/KA receptors are important for the maintenance of pain behaviors caused by incisions. IT administration of LY293558 was more effective than systemic administration and reducing pain behaviors caused by a surgical incision.

Key Words: Analgesics; intrathecal; intraperitoneal; LY293558. Pain: incisional; postoperative. Receptors: AMPA; kainate.

서 론

중추신경계의 주요 흥분성 신경전달물질인 gluta-

mate는 ionotropic 수용체와 metabotropic 수용체들을 통하여 정보를 전달한다. Ionotropic 수용체는 N-methyl-D-aspartate (NMDA)와 non-NMDA 아형으로 나누어지며 non-NMDA 수용체는 α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid (AMPA)와 kainate (KA) 아형으로 세분된다¹⁾.

해부학적 연구에서 AMPA와 KA 수용체들은 일차

책임저자 : 이해진, 서울시 영등포구 여의도동 62번지
성모병원 마취과, 우편번호: 150-010
Tel: 3779-1322, Fax: 783-0368

구심성 섬유 말단²⁾, 후근 신경절³⁾, 척수 후각^{4,5)} 및 척수상(supraspinal) 구조물에^{6,7)} 나타난다. 전기 생리학적인 연구에서 AMPA와 KA는 후근신경절, 후각 중간뉴론 및 고위중추에 상행 투사(ascending projection)하는 척수신경원을 자극한다^{8,9)}. 이온영동법으로 투여된 AMPA/KA 길항제인 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX)와 1,2,3,4-tetrahydro-6-nitro-2,3-dioxo[f]-quinoxaline-7-sulfonamide (NBQX)는 해로운 자극 및 무해한 자극에 대한 척수시상로의 반응을 거의 완전하게 막을 수 있었다^{10,11)}. 전신적으로 투여된 NBQX 역시 해로운 자극 및 무해한 자극에 대한 척수 후각신경원 반응을 현저히 감소시켰다¹²⁾. 그러나 지속적 통증모델을 이용한 행동연구에서 전신적으로 투여된 NBQX의 진통효과는 상반되는 결과를 보이고 있다¹³⁻¹⁶⁾. 확실히 NBQX의 전신적 효과는 NMDA 수용체 길항제와 같이 운동실조에 의해 제한될 수 있고, 운동실조는 진통효과의 해석에 어려움을 미칠 수 있다. 최근 환자에게 투여한 첫 보고가 있는 LY293558은 물에 잘 녹고 전체적으로 활성적인 새로운 AMPA/KA 수용체 길항제이다¹⁷⁾. 임상실험에서 정맥내로 투여된 이 약제는 capsaicin으로 유도된 기계적 통각과민을 번짐을 유의하게 감소시켰으나 정상피부에서 역치상(suprathreshold) 자극을 유의하게 감소시키지 못했다¹⁸⁾.

AMPA/KA 수용체 길항제의 진통효과 및 해부학적 작용부위에 대해서는 여러 가지 기전이 가능하며, 다양한 통증모델에 이러한 약제의 전신적^{13,15,16,18,19)} 및 척수강내²⁰⁻²²⁾ 투여 시 진통효과가 보고되었다.

외과적 절개에 의한 통증기전과 수술 후 통증치료로 새로운 약제의 연구를 위하여 Brennan등²³⁾은 쥐에서 절개통증모델을 개발하였다. 쥐의 발바닥에 절개를 넣는 이 방법은 재현될 수 있고 정량화될 수 있는 기계적 통각과민을 제공해주며 비유발 자극도 환자의 수술 후 과정과 비슷하다. 따라서 이러한 모형은 새로운 진통약제의 시험을 가능하게 해준다. 이번 실험의 목적은 AMPA/KA 수용체 길항제인 LY293558이 피부절개 후 기계적 통각과민에 미치는 영향을 연구하는 것이다. AMPA/KA 수용체 길항제의 진통작용을 연구하고 수술 받은 환자의 통증에 이용가능성을 알아보고자 절개통증모델을 이용하여 LY293558을 척수강내와 복강내로 투여하였다.

대상 및 방법

1) 실험동물

체중 250~350 g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 62마리를 대상으로 하였으며 12시간 주기로 밤낮을 교대로 유지하며 먹이와 물을 자유롭게 먹을 수 있도록 하였다.

2) 척수강내 카테터 삽입

흰쥐의 척수강내 카테터의 삽입은 Storkson등²⁴⁾과 유사한 방법을 사용하였다. 1~2% halothane 마취하에 장골능(iliac crest) 사이에 2~3 cm의 피부를 절개하고 L5-L6 요추간에서 척수강내에 집어넣은 23G 바늘을 통해 32 G 폴리에틸렌 카테터(0.0107" OD X 0.005 ID; Micro, Allison Park, USA)를 Teflon으로 코팅된 탐침(stylet)으로 강화시켜, 척수강내로 삽입하였다. 바늘과 탐침을 제거시키고 카테터를 3~3.5 cm 두축으로 거치시킨 후 밑에 있는 근육에 봉합하여 고정시켰다. 카테터의 말단을 접착제로 8 cm의 PE-10 (Becton Dickinson, Sparks, USA) 카테터에 연결시켜 피하 터널로 해서 흉추부에 노출시켰다. 카테터 끝을 소작하여 막은 후 배부에 있는 창상을 봉합하였다. 수술 후 신경손상을 보이는 쥐는 실험에서 제외시켰다. 다음날 2% xylocaine 20 μ l를 주입하고 이어서 생리식염수 10 μ l를 추가로 투입한 후 양하지 마비를 보인 쥐만 실험에 이용하였다. 척수강내 카테터를 가진 쥐는 실험이 끝난 후 20~30 μ l의 methylene blue를 척수강내로 투여하여 카테터의 척수강내 위치를 다시 확인하였다.

3) 절개통증모델 제작

발바닥 절개를 위하여 모든 쥐는 1.5~2% halothane 마취하에 Brennan등이 소개한 방법²⁴⁾으로 발바닥을 10% povidine-iodine 용액으로 소독하고 멸균한 천으로 덮었다. 11번 수술용 칼로 발뒤꿈치에 길이 1 cm 정도 피부와 근막과 근육(plantar muscle)을 절개한 후 5-0 나일론 실로 피부부를 두 번 봉합하였다. 실험당일 쥐를 플라스틱 망 위에 올려놓은 후 투명한 플라스틱 통(21×27×15 cm)으로 덮고 쥐가 새로운 환경에 적응하기를 기다렸다.

Zahn등²⁵⁾의 방법처럼 무딘 탐침(nonpunctate)의 기

기계적 자극(mechanical stimulus)에 대한 반응은 뒷개 밑의 개구된 플라스틱 망사(12×12 mm)를 통해 von Frey filament에 부착된 지름 5 mm의 플라스틱 원반을 이용하여 쥐의 발바닥 절개부위를 직접 자극하여 측정하였다. 무딘 탐침 자극에 대한 양성 반응은 filament가 구부러짐 없이 플라스틱 원반의 자극으로 회피반응을 보이거나 다리를 들어올릴 때로 정의하였다. 이 시험은 3분 간격으로 3번 측정하여 반응의 빈도를 계산하였다. 점상(punctate) 기계적 자극은 개구된 플라스틱 망사를 통해 정량화 된 von Frey filament로 절개선 인접부위를 자극하여 측정하였다. von Frey filament는 15 mN부터 시작하여 회피반응이 일어나거나 265 mN에 도달할 때까지 지속하였다. 이 시험도 3분 간격으로 3번 측정하였으며 가장 작은 값을 회피 역치로 간주하였다. 만일 265 mN에도 회피반응이 없을 경우 cut-off 치를 522 mN으로 하였다.

4) 운동 수행능력

운동 수행능력은 rotorod를 이용하였다. 각 쥐는 4 rpm으로 회전하는 rotorod (Ugo Basile Rotorod, Stoelting, USA)에 180초간 적응시킨 후 하루에 3번씩 2일간 훈련시켰다. 훈련 첫 날은 rotorod를 20초 동안에 7 rpm으로 가속시킨 후 160초 동안 막대 위에 머무르게 하였으며 훈련 둘째 날과 시험 목적으로는 rotorod를 120초 동안에 18 rpm으로 가속시킨 후 30초 동안 이 속도를 유지시켰다. 이 실험기간동안 cut-off 시간 이전에 떨어진 쥐는 추가로 1~2번 더 훈련을 시켰다. 실험 당일 4번의 예비시험 평균값을 기본값으로 하였으며, 4번 시도하여 적어도 2번 이상 cut-off 시간, 150초를 머무르지 못한 쥐는 실험에서 제외시켰다.

운동장애는 척수강내 카테터를 가지고 있는 흰쥐(군당 n=5)를 대상으로 하였다. 흰쥐의 운동장애는 척수강내로 LY293558을 투여하기 전과 투여 30, 60, 120, 180과 240분 후에 3가지 다른 행동시험으로 평가하였다. 척수강내 아편양제제 투여는 임상적으로 명백한 운동차단이 없이 수술 후 통증 치료에 흔히 사용되는 방법인데 절개통증모델에서도 척수강내 투여로 통증행동의 현저한 감소를 보였다²⁵⁾. 저자는 척수강내 5 µg의 모르핀을 투여한 후 운동기능을 평가하였다. 위치반사(placing reflex)는 흰쥐를 탁자

위에 올려놓고 뒷다리를 후하방으로 잡아당기고 놓으면 반사에 의해 다리가 다시 탁자 표면위로 돌아오는 반응을 말한다²⁶⁾(정상=2; 1~2초로 연장=1; 2초 이상=0). 위치반사는 운동장애 평가 때마다 양쪽 뒷다리에서 2~3분 간격으로 3번을 측정하여 합한 값을 기록하였다. 보행검사는 운동장애 평가 때마다 2분간 한차례 관찰하였다(정상=2, 파행: limping=1; 마비=0). 또한 운동장애를 측정하기 위하여 저자는 움직이는 rotorod도 사용하였다. 예비실험에서 척수강내 카테터를 가진 흰쥐는 rotorod 예비검사를 쉽게 통과하지 못해 예비검사의 성공률을 높이기 위해 연습기간 때마다 1분 간격으로 2~3번 훈련을 시켰다. 운동장애시험을 받은 흰쥐는 최소한도 3일이 지난 후에 다음 실험 즉 발바닥에 절개를 넣어 통증행동을 측정하는 실험을 하였다.

5) 실험 설명

예비시험을 통과한 19마리의 흰쥐를 3군으로 나누었다. Vehicle (n=6), LY293558 5 mg/kg (n=7)이나 10 mg/kg (n=6)을 예비시험 2시간 후에 복강내로 투여하였다. 약물이 rotorod 수행능력에 미치는 영향은 복강내 LY293558 투여 후 30, 60, 90, 150, 210과 330분에 측정하였다. Rotorod 수행능력 시험이 끝난 19마리의 흰쥐는 최소한 3일 후에 발바닥 절개 후 통증 행동을 연구하였다. 기계적 자극에 대한 반응 역시 복강내 LY293558 투여 후 30, 60, 90, 150, 210과 330분에 측정하였다.

발바닥 절개가 없고 rotorod 예비시험을 만족시킨 흰쥐(n=25)는 위에서 기술한대로 위치반사나 보행검사에 대해서도 예비시험을 시행하였다. 예비시험 2시간 후 척수강내로 vehicle이나 LY293558 0.2 nmol (0.06 µg), 0.5 nmol이나 2 nmol을 투여하였다. 흰쥐 26마리를 무딘 탐침, von Frey filament와 pinprick으로 자극하여 회피반응의 예비시험을 하였다. 발바닥 절개 2시간 후 다시 무딘 탐침 및 von Frey filament에 대한 회피반응을 측정한 후 vehicle (n=7)이나 LY293558 (0.2 nmol; n=7, 0.5 nmol; n=6, 2 nmol; n=6)을 척수강내로 투여하였다. 무딘 탐침에 대한 반응빈도와 von Frey filament에 대한 회피역치를 약물투여 30, 60, 120, 180과 240분 후에 측정하였다.

6) 통계 분석

실험 결과 중 연속 자료에서는 mean±SD로 서수(ordinal)는 중앙값으로 표시하였으며 모든 자료는 비모수 검정을 하였다. 군내의 시간에 따른 반응의 차이는 Friedman test와 각 군간의 반응의 차이는 Kruskal-Wallis test와 Wilcoxon-Mann-Whitney test로 분석하였다. 다중비교는 Friedman test나 Kruskal-Wallis test 후에 각각 Dunnett과 Dunn test를 이용하여 검정하였다. 운동장애 평가는 이미 cut-off 값을 갖고 있고 약물 투여 후에 단지 감소만을 측정하는 것이기

때문에 one-tailed test를 시행하였다. P값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

동물들은 실험 기간을 통하여 잘 사육되었고 정상적으로 음식과 물을 먹는 것으로 여겨졌다.

1) 복강내 LY293558

Vehicle 및 LY293558 5 mg/kg 투여로 rotorod 수행 능력이 유의하게 감소되지 않았다(Fig. 1A). LY293558

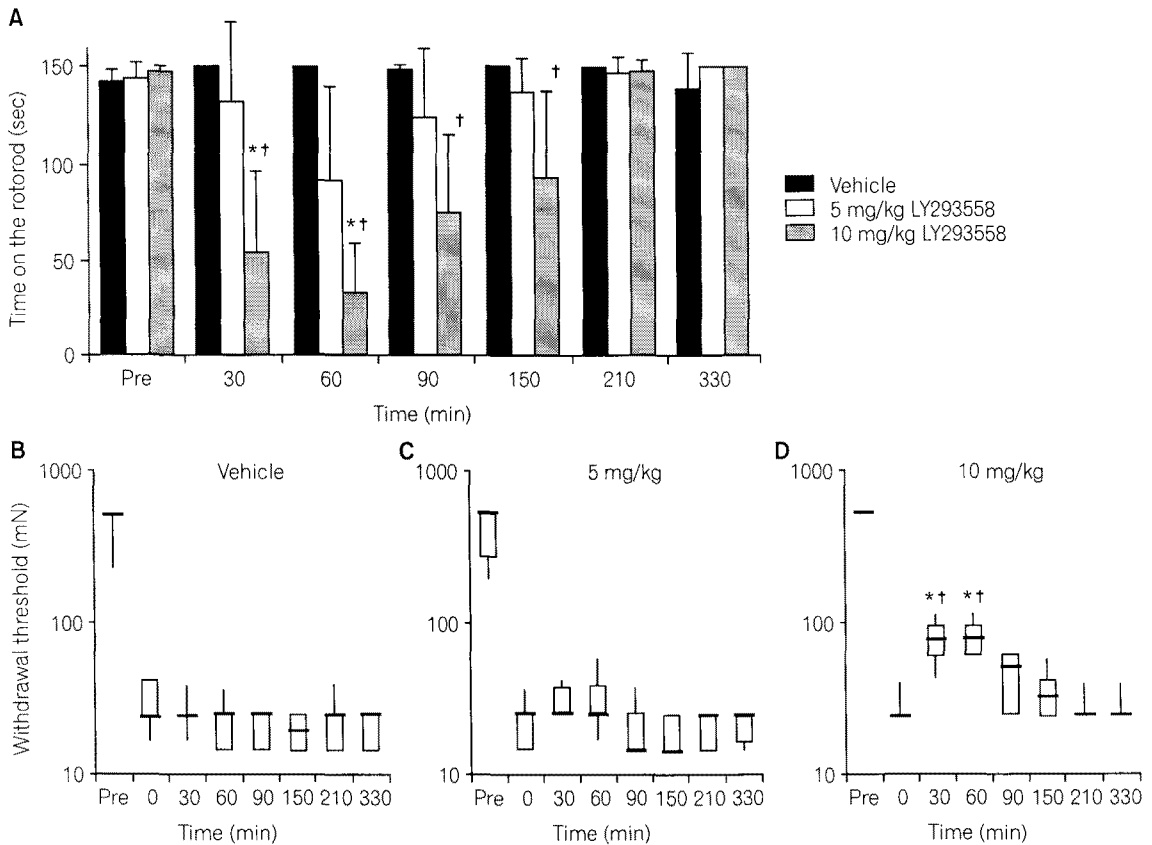


Fig. 1. Effect of the intraperitoneal (IP) LY293558 on time on the rotorod and mechanical hyperalgesia at 30, 60, 90, 150, 210 and 330 min following drug administration. (A) Dose effect on performance time on the rotorod following IP LY293558 administration. Values were expressed as mean±SD. (B-D) Effect of LY293558 on punctate mechanical hyperalgesia caused by incision. The results are expressed as medians (horizontal line) with first and third quartiles (boxes), and 10th and 90th percentiles (vertical lines). (E) Diagram of the plantar aspect of the rat foot showing the site of application of von Frey filament (solid circle) and the site of application of the plastic disc (dashed circle). *: P<0.05 versus 0 min by Friedman and Dunnett's tests †: P<0.05 versus vehicle by Kruskal-Wallis and Dunn's tests.

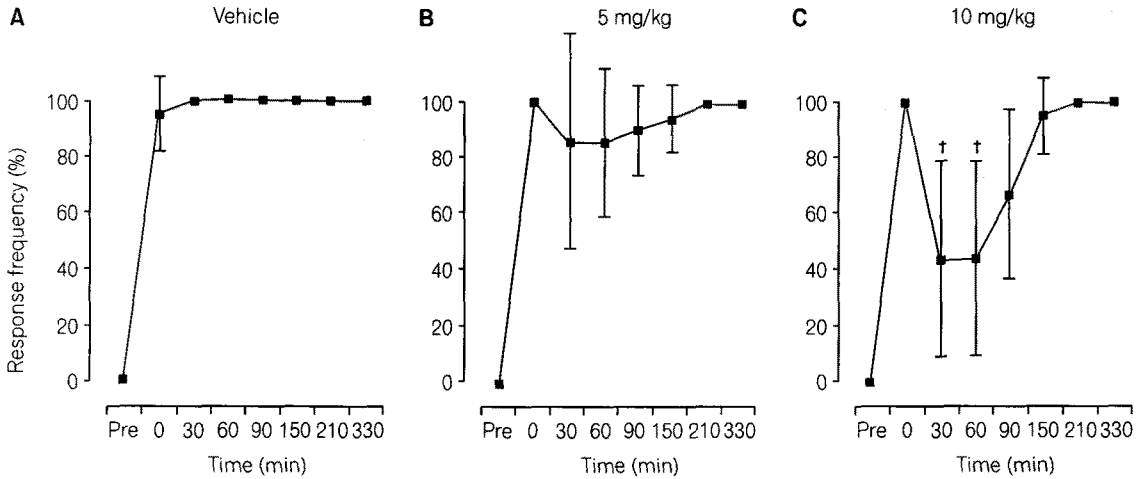


Fig. 2. Effect of intraperitoneal (IP) LY293558 on non-punctate mechanical hyperalgesia (A~C). Response frequency after IP administration of vehicle, 5 mg/kg or 10 mg/kg LY293558. †: $P < 0.05$ versus vehicle by Kruskal-Wallis and Dunn's tests. The symbols represent the mean \pm SD.

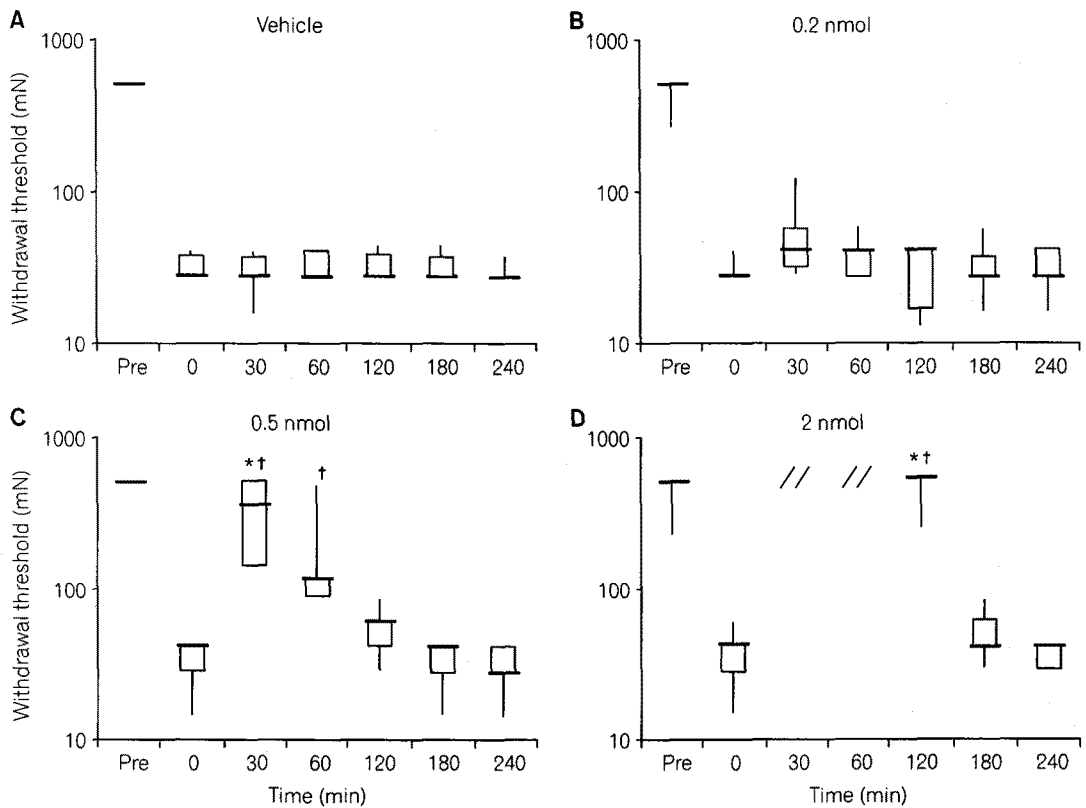


Fig. 3. Effect of intrathecal (IT) LY293558 on punctate mechanical hyperalgesia caused by incision. Withdrawal threshold after IT administration of 5% D/W, 0.2 nmol, 0.5 nmol or 2 nmol of LY293558. *: $P < 0.05$ versus 0 min by Friedman and Dunnet's tests. †: $P < 0.05$ versus vehicle by Kruskal-Wallis and Dunn's tests. //: Values were not reported due to motor block.

10 mg/kg은 vehicle군과 비교해 rotarod 수행능력이 30분에서 150분까지 유의하게 감소되었다($P < 0.05$). 발바닥 절개를 받고 vehicle을 투여 받은 흰쥐에서 von Frey filament에 대한 회피반응 역치의 중앙값은 술 전 522 mN에서 절개 2시간 후에 25 mN으로 감소되었다. 기계적 통각과민은 지속적이었고 회피반응의 역치는 시험 전 기간을 통해 25 mN 이하였다 (Fig. 1B). 복강내 LY293558 5 mg/kg 투여는 회피반응 역치를 증가시키지 못했으나(Fig. 1C), 10 mg/kg의 용량에서는 각각 30분과 60분에 회피반응 역치가 유의하게 증가되었다($P < 0.05$ vs. 0 min, Fig. 1D).

Vehicle군에서 무딘 탐침에 대한 반응빈도는 일정하였으며(Fig. 2A), 복강내 LY293668 10 mg/kg 투여 시 30분과 60분에 무딘 탐침에 대한 반응빈도가 유

의하게 감소되었다($P < 0.05$ vs. vehicle, Fig. 2C).

2) 척수강내 LY293558

Vehicle, morphine 5 μ g과 LY293558 0.2 nmol을 투여 받은 후에 위치반사, 보행은 안정적이었다. 그러나 rotarod 수행능력은 morphine 5 μ g 투여 후 30, 60, 120분과($P < 0.05$ vs. 0 and vehicle) LY293558 0.2 nmol 투여 후 180분에 유의하게 감소되었다($P < 0.05$ vs. 0, Table 1). LY293558 0.5 nmol 투여 30분 후 위치반사 값은 유의하게 감소하였으나($P < 0.05$ vs pre), 보행에는 영향이 없었다. LY293558 2 nmol은 1시간 동안 심한 하반신 마비를 일으켰고 2시간 후에 위치반사는 영향을 받았으나 보행검사는 정상이었다.

척수강내 vehicle과 LY293558 0.2 nmol 투여 받은

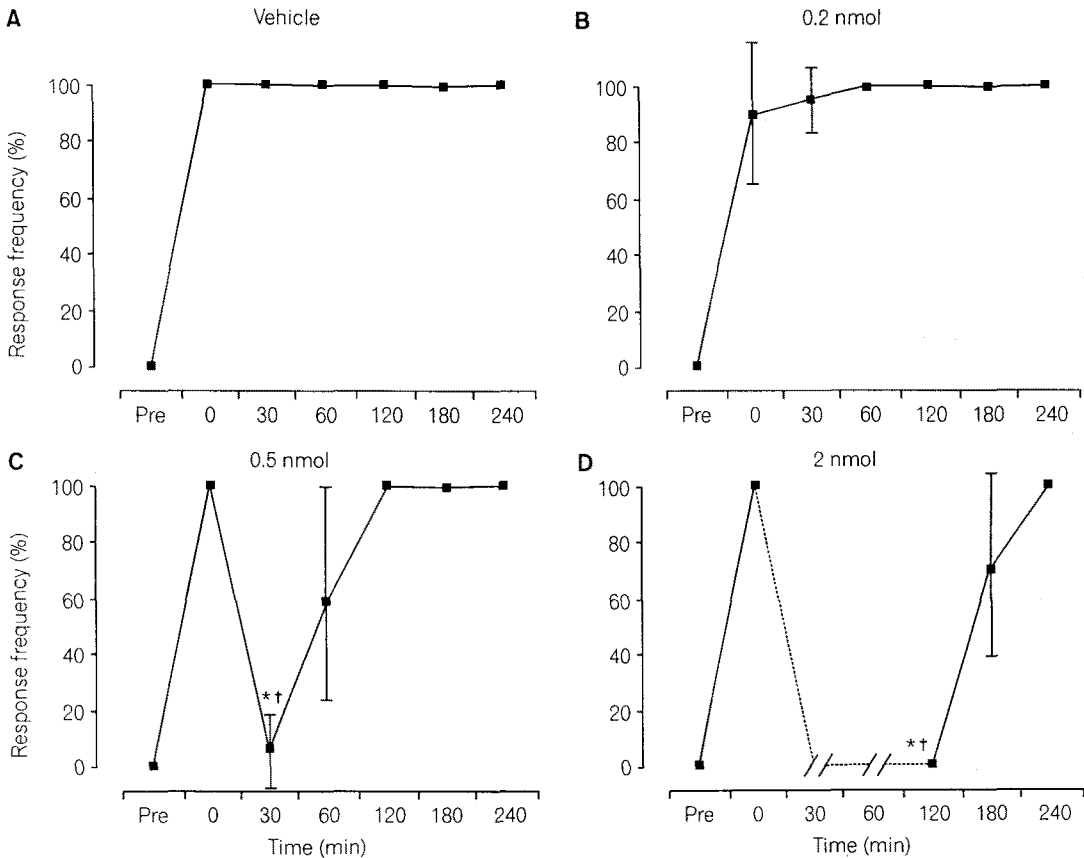


Fig. 4. Effect of intrathecal (IT) LY293558 on non-punctate mechanical hyperalgesia caused by incision in rats treated with 5% D/W, 0.2 nmol, 0.5 nmol or 2 nmol. *: $P < 0.05$ versus 0 min by Friedman and Dunnett's tests. †: $P < 0.05$ versus vehicle by Kruskal-Wallis and Dunns tests. //: Values were not reported due to motor block. The symbols represent the mean \pm SD.

Table 1. Effect of Intrathecal LY293558 or Morphine on Motor Function

Time (min)	Cumulative placing score (left)	Cumulative placing score (right)	Ambulation score	Time on the bar (s)
Vehicle				
Pre	6	6	2	145.4±4.3
30	6	6	2	137.8±27.3
60	6	6	2	141.0±12.7
120	6	6	2	146.2±8.5
180	6	6	2	131.2±28.7
240	6	6	2	135.0±20.8
LY293558 (0.2 nmol)				
Pre	6	6	2	144.7±7.6
30	6	6	2	123.6±16.4
60	6	6	2	127.8±19.4
120	6	6	2	130.4±18.4
180	6	6	2	124.4±15.7*
240	6	6	2	126.4±17.5
LY293558 (0.5 nmol)				
Pre	6	6	2	147.7±4.4
30	4*	4*	2	29.8±26.9* [†]
60	6	6	2	111.0±26.7
120	6	6	2	131.2±22.1
180	6	6	2	136.8±12.1
240	6	6	2	134.2±15.5
LY293558 (2 nmol)				
Pre	6	6	2	146.8±7.2
30	0* [†]	0* [†]	0* [†]	2.4±0.5* [†]
60	0* [†]	0* [†]	0* [†]	3.2±0.8* [†]
120	5	5	2	48.6±7.7
180	6	6	2	134.6±15.2
240	6	6	2	144.6±12.1
Morphine (5 g)				
Pre	6	6	2	145.9±4.6
30	6	6	2	62.8±20.3* [†]
60	6	6	2	64.0±33.4* [†]
120	6	6	2	66.4±21.8* [†]
180	6	6	2	109.4±33.1
240	6	6	2	128.4±20.3

Values are median (first three columns) or mean±SD (last column). Test for motor impairment before drug injection (pre) and 30~240 min after IT administration of a vehicle, 0.2 nmol, 0.5 nmol or 2 nmol of LY293558.

*: P<0.05 versus 0 min by Friedman and Dunnett's tests, [†]: P<0.05 versus vehicle by Kruskal-Wallis and Dunn's tests or Mann-Whitney rank sum tests.

후 회피반응 역치에 유의한 차이를 보이지 않았다 (Fig. 3A, B). LY293558 0.5 nmol 투여로 30, 60분에 각각 회피반응의 역치가 유의하게 증가되었다($P < 0.05$ vs. vehicle, Fig. 3C). LY293558 2 nmol 투여 후 기계적 자극에 대한 통증 반응이 억제되었으나 이 용량에서는 하반신마비가 동반되어 통증 반응을 보고하지 않았다. 그러나 기계적 자극을 가하는 동안 소리를 지르거나(vocalization) 회피 행동이 없어 운동 차단뿐만 아니라 감각차단도 생겼음을 암시해 주었다. 약물 투여 120분 후에 운동차단이 회복되고 회피반응의 역치가 유의하게 증가되었다($P < 0.05$, Fig. 3D). 비슷하게 0.5 nmol과 2 nmol군에서 각각 30분과 120분에서 무딘 탐침에 대한 반응빈도도 유의하게 억제되었다($P < 0.05$, Fig. 4C, D).

고 찰

본 실험에서 가장 중요한 결과는 쥐의 발바닥 절개로 유발되는 통증을 감소시키는 방법으로 LY293558을 척수강내로 투여하는 것이 전신적 투여보다 훨씬 더 효과적이었다는 것이다. 이미 이 약제가 사람에게 사용되어 화학적 자극에 대한 통증과 이차성 통각과민에 효과가 있었다는 결과가 보고되었지만 저자는 이 약제나 이와 비슷한 약력학을 가진 약제를 척수강내로 투여할 경우 전신적으로 투여하는 것보다 술 후 통증에 보다 더 효과적일 것이라고 사료된다.

AMPA와 KA에 의해 활성화되는 non-NMDA 수용체의 아단위에 대한 연구는 재조합(recombinant) 수용체를 이용한 방사선리간드 결합친화력으로 가능하게 되었다. AMPA 수용체들은 GluR1, GluR2, GluR3, GluR4의 아단위 수용체로 세분되고 KA 수용체들은 GluR5, GluR6, GluR7, KA1, KA2로 세분된다. 대부분의 non-NMDA 수용체 길항제는 이러한 수용체들의 상대적 친화력에 의해 약제의 효과가 다르게 나타날 수 있다¹⁾.

지속적 통증모델에서 non-NMDA 수용체 길항제를 복강내로 투여한 후 통증에 미치는 영향을 연구한 보고로 Xu 등¹³⁾은 척수근 허혈로 유도된 중추성 통증에 NBQX 7.5 mg/kg는 비침해 수용, 낮은 역치로 유발되는 통증을 감소시키지만 기계적 자극으로 유발되는 통증은 이보다 많은 용량(15, 30 mg/kg)이 요구

되었다고 보고하였다. Hao와 Xu¹⁴⁾는 같은 중추성 통증모델에서 NBQX 7.5나 15 mg의 적은 용량이 아니라 운동실조를 일으킨 30 mg/kg의 많은 용량에서만 진통효과를 관찰하였다. 포르말린 통증모델에서 NBQX 20 mg/kg로 급성기 통증반응을 막을 수 있었으나 긴장기 통증반응은 운동실조가 있는 30 mg/kg 투여로 막을 수 있었다고 하였으나¹⁵⁾ 이와는 대조적으로 NBQX 20 mg/kg 투여로 긴장기 통증반응을 감소시켰다는 보고도 있다¹⁶⁾. Simmons 등¹⁶⁾은 포르말린 통증모델에서 LY293558을 복강내로 투여한 결과 운동실조가 없는 용량에서 긴장기 통증반응을 억제하였으며, 이 보고에서 더욱 선택적인 KA 수용체 길항제인 LY383884는 긴장성 통증반응을 억제시키는 용량의 10배를 투여해도 운동실조를 유발시키지 않았다. 또 다른 선택적인 KA 수용체 길항제인 SYM2081을 복강내 투여 시 만성 신경협착 손상모델에서 기계적 이질통과 온열성 통각과민이 억제되었다¹⁹⁾. 이러한 연구들은 non-NMDA 수용체 길항제의 전신적 효과는 운동실조 효과에 의해 제한될 수 있고 non-NMDA 수용체 길항제의 구조적 차이에 의한 AMPA와 KA 수용체의 상대적 친화력에 따라 통증효과 및 운동실조의 관계에 영향을 주는 것으로 사료된다. 이번 연구에서 LY293558의 복강내 투여로 관찰된 진통효과는 작았고 이러한 효과는 운동실조와 관련이 있었다. 따라서 절개통증모델에서 복강내 투여한 LY293558의 진통효과는 운동실조가 진통효과에 영향을 미칠 수 있는 가능성 때문에 확실하지 않다.

통증모델에서 척수강내로 non-NMDA 수용체 길항제를 투여한 보고로 포르말린 통증모델에서 CNQX 85 nmol 투여로 지속적인 침해반응을 감소시키지 못했으며²⁶⁾, carrageenan 통증모델에서 CNQX 투여 후 심한 운동차단이 없는 용량에서는 통각과민 반응을 감소시키지 못했고²⁷⁾, 만성 신경협착 통증모델에서 CNQX 20~80 nmol 투여로 온열 통각과민을 완화시키지 못했다는 보고가 있다²⁸⁾. 반면에 kaolin과 carrageenan으로 유도된 급성관절염 모델에서 CNQX의 전처치²⁰⁾ 및 후처치가²¹⁾ 온열 통각과민을 완화시켰으며, 신경결찰 통증모델에서 DNQX 4~12 nmol 투여 후 기계적 이질통을 억제시켰다는 보고도 있다²²⁾. 이 같은 차이는 각각의 통증모델의 특성과 non-NMDA 수용체 길항제의 구조적 차이에 의한 진통효과의 차이라고도 여겨지나 더 중요한 것은 non-NMDA

수용체 길항제 투여로 생길 수 있는 운동 차단 때문에 약제의 적정량 투여가 어렵고 또한 운동차단 시 진통효과 판정의 어려움 때문이라 사료된다.

전기 생리학적 연구에서 이온영동으로 투여된 AMPA와 KA는 척수후각 신경원 반응을 감작시키나 AMPA와 KA 투여를 멈추면 수용체에 대한 자극이 중지되어 증가된 반응도 즉각 차단된다²⁹⁾. 이온영동으로 투여된 CNQX는 kaolin과 carrageenan으로 유도된 통증모델에서 척수후각 신경원의 흥분성을 막았으며¹⁰⁾, capsaicin을 원숭이의 발바닥에 투여한 화학적 통증모델에서 CNQX 투여는 무해한 자극 및 해로운 자극에 대한 척수시상으로 반응을 감소시켰다¹¹⁾. 또한 말초신경 손상모델에서 NBQX 투여로 무해한 brush 반응에 대한 wide dynamic range 세포의 흥분성을 줄였다고 하였는데³⁰⁾ 이는 non-NMDA 수용체가 척수후각에서 염증 및 이차성 통각과민을 포함한 여러 가지 통각과민에 관여할 수 있음을 시사하였고 Zahn 등³¹⁾은 절개통증모델에서 척수강내로 NBQX와 DNQX 투여로 통각과민을 막았다고 하여 수술로 유도된 통각과민에도 척수내의 non-NMDA 수용체가 관련됨을 보여주었다. 본 실험에서도 절개통증모델에 척수강내로 투여한 LY293558이 기계적 통각과민을 억제하여 척수강내 non-NMDA 수용체가 수술로 유도된 통각과민에 관련됨을 다시 한번 확인할 수 있었다.

지속적 통증이 non-NMDA 아단위 수용체에 미치는 영향에 대한 보고로 Sang 등¹⁸⁾은 임상실험에서 LY293558 정주 시 볼 수 있었던 항통각과민과 항이질통의 기전을 후근신경절의 특별한 아단위 수용체 GluR5로 추정하였고 Simmons 등¹⁶⁾도 포르말린 통증모델에서 LY293558의 복강내 투여로 생긴 항긴장기통증반응 역시 척수강에 있는 아단위 수용체 GluR5로 추정하고 있으나 저자는 전신적으로 투여된 약제의 작용부위는 반드시 척수상(supraspinal) 수용체를 통한 효과가 고려 되어야 하며 따라서 이러한 약제의 효과는 척수상 GluR5 수용체 길항을 통하여 이루어진다고 사료된다. 척수강내에 non-NMDA 수용체에 대한 연구로 Harris 등³²⁾은 좌골신경 절찰 후에 동측의 척수후각에서 GluR1 GluR2/3의 AMPA 수용체 아단위들의 증가를 보였는데 이러한 증가현상은 온열 통각과민의 시간 경과와 일치했다고 한다. Carlton 등⁵⁾은 흰쥐의 척수후각이 구심소차단(deafferentiation)된 쪽의 lamina III, IV에 GluR1이 유의하게 증가되어

이러한 Glu1이 후근 손상 후에 생기는 척수신경근 통증에 관여한다고 하였다. 이와 같은 보고는 척수후각의 AMPA 아단위 수용체등이 만성통증에 관여한다는 사실을 나타내고 있고 저자들은 이러한 척수후각내 AMPA 아단위가 절개통증모델의 기계적 통각과민에 작용하는 것으로 추정되나 이에 대해서는 추후 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

본 연구에서 운동장애를 측정하기 위하여 3종류의 검사방법을 사용하였다. 이러한 방법으로 운동차단과 진통작용에 대한 정보를 얻을 수 있다. 보행장애는 가장 많은 용량의 LY293558을 척수강내로 주사했을 경우에 생기는 하반신 마비에서만 차이를 보여 사소한 운동장애는 발견할 수 없었다. 따라서 보행검사는 심한 운동장애의 측정에만 사용이 제한된다고 사료된다. Non-NMDA 수용체 길항제를 척수강내 투여한 Zahn 등³¹⁾ 및 본 실험에서 위치반사가 지연되었지만 소실되지 않았을 때 쥐가 유해한 기계적 자극에 반응할 수 있었다. 이와 같이 위치반사가 지연되는 경우 von Frey filament에 대한 회피반응이 단지 지연될 뿐이라고 생각된다. 이 경우 회피반사는 정상적이며 따라서 회피역치의 증가는 감각기능의 억제를 뜻하는 것이라 사료된다. 위치반사가 소실되면 이러한 기계적 자극에 대한 회피반응을 하기 어렵다. 비록 기계적 자극을 가하는 동안 소리를 지르거나 회피 행동이 없는 것을 진통효과로 여길 수도 있으나 쥐의 다리가 이완되어 회피반응을 나타내지 못한다. 위치반사나 보행이 정상일 경우에도 rotorod는 미세한 운동장애를 탐지한다. 본 실험에서도 척수강내 모르핀 투여 후 rotorod의 수행능력 감소를 보였는데 이는 아편양제제의 척수강내 투여 후 rotorod 수행능력이 감소했다는 보고와³³⁾ 일치된다. 저자는 본 실험에서 rotorod 수행능력이 30~50초 정도 감소되어도 유해한 자극에 대한 회피반응 능력을 막지는 못한다고 생각된다. 결론적으로 복강 및 척수강내로 non-NMDA 수용체 길항제인 LY293558을 투여하는 것은 수술 절개로 야기된 통증 행동의 억제를 보였다. 그러나 복강내 투여 시 통증 행동의 효과는 작았으며 부작용과 관계되었다. 척수강내 투여로 운동 및 감각차단이 생겼으나 감각차단의 효과가 운동차단보다 더 컸다. 따라서 이러한 자료는 수술 후 통증을 감소시키기 위하여 non-NMDA 수용체 길항제를 척수강내로 투여하는 것이 효과적일 것이라

고 추정되나 운동차단의 가능성 때문에 임상사용 시 용량조절이 관건이라 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Fletcher EJ, Lodge D: New developments in the molecular pharmacology of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate and kainate receptors. *Pharmacol Ther* 1996; 70: 65-89.
- 2) Popratiloff A, Weinberg RJ, Rustioni A: AMPA receptor subunits underlying terminals of fine-caliber primary afferent fibers. *J Neurosci* 1996; 16: 3363-72.
- 3) Sato K, Kiyama H, Park HT, Tohyama M: AMPA, KA and NMDA receptors are expressed in the rat DRG neurones. *Neuroreport* 1993; 4: 1263-5.
- 4) Furuyama T, Kiyama H, Sato K, Park HT, Maeno H, Takagi H, et al: Region-specific expression of subunits of ionotropic glutamate receptors (AMPA-type, KA-type and NMDA receptors) in the rat spinal cord with special reference to nociception. *Brain Res Mol Brain Res* 1993; 18: 141-51.
- 5) Carlton SM, Hargett GL, Coggeshall RE: Plasticity in alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor subunits in the rat dorsal horn following deafferentation. *Neurosci Lett* 1998; 242: 21-4.
- 6) Keinanen K, Wisden W, Sommer B, Werner P, Herb A, Verdoorn TA, et al: A family of AMPA-selective glutamate receptors. *Science* 1990; 249: 556-60.
- 7) Wisden W, Seeburg PH: A complex mosaic of high-affinity kainate receptors in rat brain. *J Neurosci* 1993; 13: 3582-98.
- 8) Davies J, Watkins JC: Role of excitatory amino acid receptors in mono- and polysynaptic excitation in the cat spinal cord. *Exp Brain Res* 1983; 49: 280-90.
- 9) Willcockson WS, Chung JM, Hori Y, Lee KH, Willis WD: Effects of iontophoretically released amino acids and amines on primate spinothalamic tract cells. *J Neurosci* 1984; 4: 732-40.
- 10) Neugebauer V, Lucke T, Schaible HG: N-methyl-D-aspartate (NMDA) and non-NMDA receptor antagonists block the hyperexcitability of dorsal horn neurons during development of acute arthritis in rat's knee joint. *J Neurophysiol* 1993; 70: 1365-77.
- 11) Dougherty PM, Palecek J, Paleckova V, Sorkin 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.
- 12) Cumberbatch MJ, Chizh RA, Headly PM: AMPA receptors have an equal role in spinal nociceptive and non-nociceptive transmission. *Neuroreport* 1994; 5: 877-80.
- 13) Xu XJ, Hao JX, Seiger A, Wiesenfeld-Hallin Z: Systemic excitatory amino acid receptor antagonists of the alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) receptor and of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor relieve mechanical hypersensitivity after transient spinal cord ischemia in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 267: 140-4.
- 14) Hao JX, Xu XJ: Treatment of a chronic allodynia-like response in spinally injured rats: effects of systemically administered excitatory amino acid receptor antagonists. *Pain* 1996; 66: 279-85.
- 15) Hunter JC, Singh L: Role of excitatory amino acid receptors in the mediation of the nociceptive response to formalin in the rat. *Neurosci Lett* 1994; 174: 217-21.
- 16) Simmons RM, Li DL, Hoo KH, Deverill M, Ornstein PL, Iyengar S: Kainate GluR5 receptor subtype mediates the nociceptive response to formalin in the rat. *Neuropharmacology* 1998; 37: 25-36.
- 17) Ornstein PL, Arnold MB, Augenstein NK, Lodge D, Leander JD, Schoepp DD: (3SR,4aRS,6RS,8aRS)-6-[2-(1H-tetrazol-5-yl)ethyl] decahydroisoquinoline-3-carboxylic acid: a structurally novel, systemically active, competitive AMPA receptor antagonist. *J Med Chem* 1993; 36: 2046-8.
- 18) Sang CN, Hostetter MP, Gracely RH, Chappell AS, Schoepp DD, Lee G, et al: AMPA/kainate antagonist LY293558 reduces capsaicin-evoked hyperalgesia but not pain in normal skin in humans. *Anesthesiology* 1998; 89: 1060-7.
- 19) Sutton JL, Maccicchini ML, Kajander KC: The kainate receptor antagonist 2S,4R-4-methylglutamate attenuates mechanical allodynia and thermal hyperalgesia in a rat model of nerve injury. *Neuroscience* 1999; 91: 283-92.
- 20) Sluka KA, Westlund KN: Centrally administered non-NMDA but not NMDA receptor antagonists block peripheral knee joint inflammation. *Pain* 1993; 55: 217-25.
- 21) Sluka KA, Jordan HH, Willis WD, Westlund KN: Differential effects of N-methyl-D-aspartate(NMDA) and non-NMDA receptor antagonists on spinal release of amino acids after development of acute arthritis in rats. *Brain Res* 1994; 664: 77-84.

- 22) 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.
- 23) Brennan TJ, Vandermeulen EP, Gebhart GF: Characterization of a rat model of incisional pain. *Pain* 1996; 64: 493-501.
- 24) Storkson RV, Kjorsvik A, Tjolsen A, Hole K: Lumbar catheterization of the spinal subarachnoid space in the rat. *J Neurosci Methods* 1996; 65: 167-72.
- 25) Zahn PK, Gysbers D, Brennan TJ: Effects of systemic and intrathecal morphine in a rat model of postoperative pain. *Anesthesiology* 1997; 86: 1066-77.
- 26) Coderre TJ, Van Empel I: The utility of excitatory amino acid (EAA) antagonists as analgesic agents. II. Assessment of the antinociceptive activity of combinations of competitive and non-competitive NMDA antagonists with agents acting at allosteric-glycine and polyamine receptor sites. *Pain* 1994; 59: 353-9.
- 27) Ren K, Williams GM, Hylden JLK, Ruda MA, Dubner R: The intrathecal administration of excitatory amino acid receptor antagonists selectively attenuated carrageenan-induced behavioral hyperalgesia in rats. *Eur J Pharmacol* 1992; 219: 235-43.
- 28) Mao J, Price DD, Hayes RL, Lu J, Mayer DJ: Differential roles of NMDA and non-NMDA receptor activation in induction and maintenance of thermal hyperalgesia in rats with painful peripheral mononeuropathy. *Brain Res* 1992; 598: 271-8.
- 29) Cumberbatch MJ, Herrero JF, Headley PM: Exposure of rat spinal neurones to NMDA, AMPA and kainate produces only short-term enhancements of responses to noxious and non-noxious stimuli. *Neurosci Lett* 1994; 181: 98-102.
- 30) Leem JW, Choi EJ, Park ES, Paik KS: N-methyl-D-aspartate (NMDA) and non-NMDA glutamate receptor antagonists differentially suppress dorsal horn neuron responses to mechanical stimuli in rats with peripheral nerve injury. *Neurosci Lett* 1996; 211: 37-40.
- 31) Zahn PK, Umali E, Brennan TJ: Intrathecal non-NMDA excitatory amino acid receptor antagonists inhibit pain behaviors in a rat model of postoperative pain. *Pain* 1998; 74: 213-23.
- 32) Harris JA, Corsi M, Quartaroli M, Arban R, Bentivoglio M: Upregulation of spinal glutamate receptors in chronic pain. *Neuroscience* 1996; 74: 7-12.
- 33) Miaskowski C, Franck LS, Putris J, Levine JD: Temporal dissociation of recovery from antinociceptive and motor effects following intrathecal administration of a selective μ -opioid agonist. *Nurs Res* 1993; 42: 344-8.