

백서의 척수강 내로 장기간 투여한 Cannabinoids의 진통 효과 및 독성에 관한 연구

전남대학교 의과대학 마취통증의학교실, *해부학교실

윤명하 · 배흥범 · 최정일 · 배춘상* · 김석재 · 김창모
정성태 · 김광수 · 진원종 · 김종필 · 김종식

= Abstract =

Study for the Antinociceptive Effect and Toxicity of Chronic Intrathecal Infusion of Cannabinoids in Rats

Myung Ha Yoon, M.D., Hong Bueum Bae, M.D., Jeong Il Choi, M.D., Chun Sang Bae, M.D.*,
Seok Jae Kim, M.D., Chang Mo Kim, M.D., Sung Tae Jeong, M.D., Kwang Su Kim, M.D.,
Won Jong Jin, M.D., Jong Pil Kim, M.D., and Jong Sik Kim, M.D.

Departments of Anesthesiology and Pain Medicine, *Anatomy, Medical School, Chonnam National University, Gwangju, Korea

Background: Cannabinoids have shown antinociceptive action. The aims of this study were to examine the effect of chronic infusion of a cannabinoids receptors agonist (WIN 55,212-2) for thermal nociception at the spinal level, and to also observe the development of toxicity.

Methods: Male Sprague-Dawley rats were implanted with lumbar intrathecal catheters with the nociceptive response (withdrawal response latency) determined by exposing the plantar surface of the hindpaw to radiant heat. Initially, the effect of intrathecal WIN 55,212-2 was evaluated followed by the change in the effect at 1, 2, 3 and 4 weeks after repeated infusion. Finally, the histopathological findings were assessed 1 and 4 weeks following the infusion of WIN 55,212-2.

Results: Intrathecal WIN 55,212-2 was found to produce a limited antinociception during the thermal test. %MPE of WIN 55,212-2 at 1, 2, 3, and 4 weeks after infusion was not different from each other. No abnormal pathological findings were observed following a chronic intrathecal infusion of WIN 55,212-2.

Conclusions: WIN 55,212-2, a cannabinoids receptors agonist, may be useful in the management of thermal nociception, without changing the effectiveness or causing the toxicity following a chronic infusion at the spinal level. (Korean J Pain 2005; 18: 133-137)

Key Words: cannabinoids, chronic, intrathecal, rat, thermal test, toxicity.

서 론

지난 30년 동안 cannabinoids의 효과와 특성에 관한 팔목할 만한 성장을 이루었으며 특히 강력한 진통 효과들이 보고되었다.^{1,2)} 복강, 뇌실 및 척수강 내로 투여한 cannabinoids 수용체 작용제들은 hot-plate나 tail flick과 같은 급성 통증 유발 실험모형에서 통증을 유의하게 억제하였다.^{3,5)} 또한 cannabinoids는 염증성 혹은 조직손상에 의해 유발된 통증도 강력

히 억제하였다.⁶⁻¹²⁾ 이러한 cannabinoids의 진통 효과는 척수의 cannabinoids 수용체를 통하여 나타난다고 한다.^{8,12)} 한편 cannabinoids는 opioid 펩타이드 유리증가를 통하여서도 진통 효과를 보인다고 한다.⁵⁾ 따라서 opioid에 의한 내성이 발생할 수도 있을 것으로 추측된다. 아울러 cannabinoids는 고용량에서 운동 기능 저하나 마치 얼어서 움직이지 못하는 듯한 행동인 catalepsy (강경증)를 유발한다고 한다.¹³⁾ 그러나 척수 수준에서 cannabinoids를 장기간 주입한 후 진통 효과 변화, 부작용 발생 및 독성 등에 관해서는 알려진 바가 없다.

접수일 : 2005년 9월 23일, 승인일 : 2005년 12월 13일

책임저자 : 윤명하, (501-757) 광주광역시 동구 학동 8번지, 전남대학교병원 마취통증의학과

Tel: 062-220-6893, Fax: 062-232-6294, E-mail: mhyoon@chonnam.ac.kr

이 논문은 2004년도 전남대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

Received September 23, 2005, Accepted December 13, 2005

Correspondence to: Myung Ha Yoon, Department of Anesthesiology and Pain Medicine, Medical School, Chonnam National University, 8 Hak-dong,

Dong-gu, Gwangju 501-757, Korea. Tel: +82-62-220-6893, Fax: +82-62-232-6294, E-mail: mhyoon@chonnam.ac.kr

This study was financially supported by Chonnam National University.

본 연구의 목적은 첫째, 열 자극 통증 모형에서 백서의 척수강 내로 투여한 cannabinoids 수용체 작용제의 효과를 측정하고 둘째, 장기간 투여에 따른 cannabinoids 수용체 작용제의 효과 변화를 평가하고 셋째, 척수의 조직학적 조건을 검사하여 독성 발생 유무를 관찰하는데 있었다.

대상 및 방법

모든 실험계획은 의과학 연구소의 동물 위원회 허락을 받은 후 규정에 따라 시행하였다. 실험대상은 수컷 Sprague-Dawley (250-300 g) 백서로 하였으며 12시간 간격으로 명암이 조절되는 사육실에서 물과 먹이를 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다. 요부 척수강내 카테터는 enflurane 마취 하에서 Yaksh와 Rudy의¹⁴⁾ 방법을 이용하여 환추후두막 절개부위를 통하여 삽입하였다. 카테터 하부 끝 부위를 8.5 cm 하방까지 진입시켜 요부 확장 부에 위치하도록 하였다. 카테터 상부 끝 부위는 피하를 통하여 두개골 상부에서 고정된 다음 28게이지 철사로 막아놓았다. 절개부위를 3-0 실크로 봉합한 후 마취에서 각성시켰다. 각성 후 정상적인 운동 반응을 보인 백서만을 사용하여 시험을 하였으며 신경학적 손상을 보인 백서는 흡입마취제를 과다 투여하여 사망시키고 시험에서 제외시켰다. 정상조건을 보인 백서는 각각의 케이지에 넣어 사육시켰으며 수술 4-5일 후에 본 실험을 시행하였다.

본 연구를 위해 사용한 약물은 WIN 55,212-2 mesylate (Tocris Cookson Ltd., UK)이었다. 약물은 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 용해시켜 10 µl로 하여 수동식 기어장치 주사기에 카테터를 연결하여 척수강 내로 주입하고 카테터 내의 사강 용적을 고려하여 실험약물 주입 후 생리식염수 10 µl를 추가로 주입하였다.

열 자극 통증 모형은 Hargreaves형 열성 실험 기구를 변형시킨 것으로 백서의 뒷발바닥에 방사성 열성 자극을 가한 후 그 발을 회피하는데 걸리는 시간을 측정하는 시험(Hot-Box test)이다.¹⁵⁾ 즉, 실험 백서를 30°C로 유지되는 유리판 위에 놓은 후 유리판을 통하여 백서의 양쪽 발바닥에 방사성 열 자극을 직접 가하였다. 자극과 동시에 시계가 작동하며 자극과 시계는 백서가 발을 바닥에서 띄거나 20초(cut-off-time)가 되면 자동적으로 멈추게 되는데 이를 회피 반응 시간(withdrawal latency)으로 간주하였으며 두 뒷발에서 측정된 회피 반응 시간의 평균치를 측정치로 정의하였다. 대조치는 약물 투여 전 양쪽 발에서 측정된 평균치로 하였다.

먼저, 척수강 내로 카테터 삽입 4-5일 후 실험 백서를 7 × 18 × 23 cm 크기의 실린더에 옮기고 약 20분 정도의 적응기간을 거친 후 열 자극 시험을 진행하였다.

척수강 내로 cannabinoids 수용체 작용제인 WIN 55,212-2 (3, 10, 30 µg)을 투여하고 15, 30, 60, 90 및 120분에 열 자극에 대한 회피 반응 시간을 두 뒷발에서 1회 측정하였다.

행동학적 검사는 righting 반사(실험 백서를 바닥에 두고 뒤집었을 때 신속하게 다시 원상태로 되돌아오는 반사)와 placing 반사(실험 백서를 테이블 가장자리에 매달리게 하면 발등을 끌어올리려는 반사)를 이용한 운동기능 평가로 하였다. 이를 위해 열 자극을 가하지 않은 다른 백서의 척수강 내로 WIN 55,212-2 (30 µg)을 투여한 후 5, 10, 20, 30, 40, 50 및 60분에 반응을 평가하였다. 또한 이개(pinna) 반사와 각막(corneal) 반사도 함께 검사하였다.

다음으로, WIN 55,212-2 장기간 투여 후 효과를 평가하였다. 이를 위하여 WIN 55,212-2 (30 µg)을 4주 동안 매일 척수강 내로 투여하였다. 투여 시점에 의한 효과 차이를 최소화하기 위하여 매일 오전 10시에 약물을 투여하였다. 투여 당일, 1주, 2주, 3주 및 4주 후에 위에서 기술한 열 자극 시험과 행동학적 검사를 같은 방법으로 시행하였다.

마지막으로, 장기투여 후 척수 조직의 변화양상을 알아보기 위하여 조직 검사를 시행하였다. 먼저 조직의 고정 및 절편의 제작을 위해서 ketamine (70 mg/kg)을 실험 백서의 복강 내로 주입하여 마취시킨 후 1 × phosphate buffer saline (PBS, pH 7.4)에 4% paraformaldehyde를 녹인 고정액으로 심장 관류 고정을 시행하여 척수를 카테터와 함께 분리 적출하였다. 1 × PBS에 4% paraformaldehyde를 녹인 고정액에 4°C에서 12시간 후고정한 다음 파라핀 포매하여 6 µm 내외의 파라핀 연속 절편을 얻고 hematoxylin과 eosin 염색을 실시하였다. 조직 검사는 WIN 55,212-2 (30 µg) 투여 후 1주와 4주에 시행하였다. 조직 소견은 실험 약물에 대해서 알지 못하는 해부학 교실에서 관독하였다. 약물을 투여하지 않고 카테터만 거치 한 경우를 대조군으로 하였다. 주위의 섬유화나 다른 반응, 척수강내 염증 반응 및 척수 실질 부위의 손상 여부 등을 관찰하였다. 이상 반응은 다음과 같이 점수화 하였다: 0; 이상 없음, 1; 경미한 변화, 2; 중등도 변화, 3; 심한 변화.

모든 측정값은 평균 ± 표준오차로 표시하였다. 열 자극 시험에서 시간 반응 자료는 자극에 대한 회피 반응 시간으로 하였고 용량 반응 자료는 아래 공식에 따라 최대 가능 효과(maximal possible effect) 백분율 (%MPE)로 하였다.

$$\%MPE = \frac{\text{약물 투여 후 회피반응 시간} - \text{대조군 회피 반응 시간}}{\text{Cut-off time (20 s)} - \text{대조군 회피 반응 시간}} \times 100$$

통계분석은 분산분석법을 이용하였다. P값이 0.05 미만일 때를 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

대조치인 약물 투여 전 회피 반응 시간은 6.8 ± 0.1 sec 이었고(n = 15) 실험군간에서 대조치는 유의한 차이가 없었다. 척수강 내로 투여한 cannabinoids 수용체 작용제인 WIN

55,212-2는 열 자극 시험에서 회피 반응 시간을 용량 의존적으로 증가시켰으나 그 효과는 제한적이었다(59% MPE,

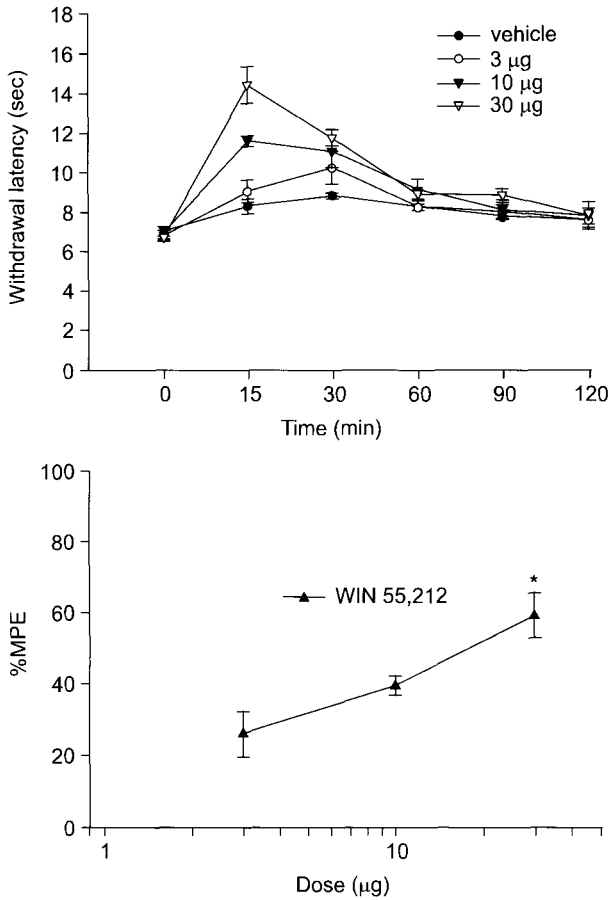


Fig. 1. Time course and dose response curves of intrathecal WIN 55,212-2 in the Hot-Box test. WIN 55,212-2 was administered at time 0. Data are presented as the withdrawal latency or percentage of the maximal possible effect (%MPE) for control. WIN 55,212-2 produced a limited increase of the withdrawal latency in the Hot-Box test. Each line on the graph represents the mean \pm SEM of 4–6 rats. Compared with control, * $P < 0.05$.

Fig. 1). 척수강 내로 투여한 WIN 55,212-2는 본 시험에서 투여한 최대용량에서 운동기능 이상을 초래하지 않았고 이개 반사와 각막 반사도 정상이었다($n = 15$). WIN 55,212-2 ($30 \mu\text{g}$) 투여 후 1주, 2주, 3주 및 4주에 측정된 회피 반응 시간의 %MPE는 투여 당일 측정된 회피 반응 시간과 유의한 차이를 보이지 않았고(Fig. 2) 또한 이때 평가한 운동기능, 이개 반사 및 각막 반사도 모두 정상이었다. WIN 55,212-2 ($30 \mu\text{g}$) 투여 1주($n = 3$) 후에 시행한 척수 조직 검사상 척수강 내의 카테터 주변부위에 소수의 섬유성 세포와 염증성 세포가 관찰되었으나 척수에서 다른 병적 소견은 관찰되지 않았고 4주($n = 3$) 후에는 카테터 주변부위의 염증성 소견도 보이지 않았다(Fig. 3). 대조군과 약물 투여군 사이에 유의한 차이가 없었고 약물 투여 후 1주와 4주에서도 큰 차이가 없었다(Fig. 3).

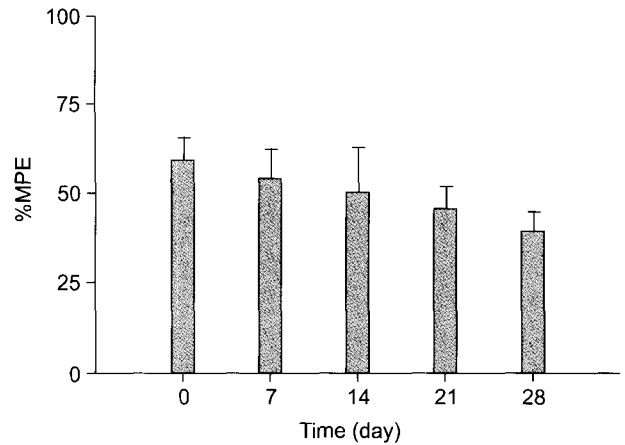


Fig. 2. Time course of the withdrawal latency assessed over 28 days receiving chronic intrathecal infusion of WIN 55,212-2 ($30 \mu\text{g}$) in the Hot-Box test. Data are presented as the percentage of the maximal possible effect (%MPE) for control. %MPE of WIN 55,212-2 was not different during the 28 day trial. Each bar on the graph represents the mean \pm SEM of 4 rats.

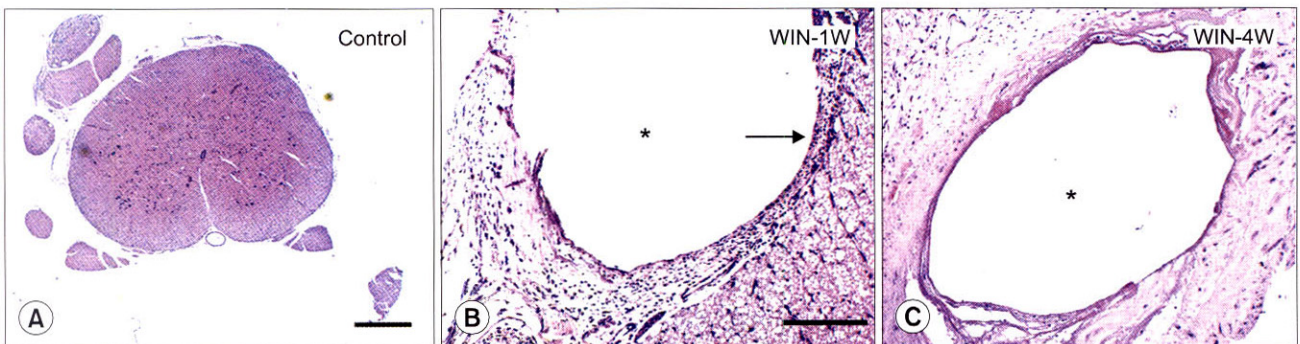


Fig. 3. Micrographics of intrathecal catheters and spinal cords in control (A), WIN 55,212-2-treated ($30 \mu\text{g}$) at 1 week (B) and 4 weeks (C) rats. There was mild to moderate inflammation caused by the catheters at 1 week, but these inflammatory responses were not seen at 4 week. *and arrow indicate the catheter tract or inflammatory responses. Scale bar = $40 \mu\text{m}$.

고 찰

본 실험결과 cannabinoids 수용체 작용제인 WIN 55,212-2는 척수강 투여 후 열 자극 시험에서 회피 반응 시간을 억제하였다. 이는 척수 수준에서 열 자극에 의해 유발된 통증에 대한 cannabinoids 수용체의 조절 역할을 시사한다. Cannabinoids 수용체는 1, 2형의 두 유형으로 분류되며 특히 척수에서 1형의 존재가 자가방사선상이나 면역조직화학검사에 의해 입증되었다.¹⁶⁻¹⁸⁾ 척수 cannabinoids가 통증 전달을 감소시키는 작용기전으로는 첫째, 전신넵스에 작용하여 신경 전달 물질의 분비를 억제하는 것이다. Cannabinoids 수용체 중 제 1형의 활성화는 N, P/Q형 칼슘통로를 통한 칼슘 흐름을 감소시킨다.¹⁹⁻²¹⁾ Cannabinoids 수용체의 활성화는 adenylyl cyclase 활성도를 억제한다고 한다.²²⁾ 또한, cannabinoid 1형 수용체 활성화는 포타슘 흐름을 강화시킨다.²³⁾ 이러한 현상들은 세포의 흥분성을 감소시켜 신경 전달물질 유리를 감소시킨다. 전기생리학적 연구에서도 cannabinoids가 척수에서 통증에 의해 유발된 신경원의 활성도를 감소시켰다.²⁴⁾ 둘째, cannabinoids는 후시넵스에서 포타슘 흐름의 강화를 통한 막 활동전위를 안정시켜 통증자극 전달을 억제한다. 셋째, cannabinoids는 억제성 회로를 강화시켜 통증억제 물질을 분비하여 진통작용을 나타낸다. 그외, cannabinoids의 진통효과에 대한 다른 작용기전으로 dopamine 2 수용체에서의 dopamine 유리증가,²⁵⁾ alpha 2 adrenoceptors에서 noradrenaline 유리증가,²⁶⁾ 및 척수 κ -수용체에서의 opioid 펩타이드 유리증가,⁵⁾ eicosanoid 생산 억제²⁷⁾ 그리고 cannabinoid 2형 및 cannabinoid 2형 유사 수용체의 활성화²⁸⁾ 등도 cannabinoids의 진통효과에 일부 관여하는 것으로 제시되었다. Yoon과 Choi에¹²⁾ 의하면 cannabinoids의 진통효과는 cannabinoid 2형 수용체와는 무관하고 1형 수용체를 통하여 나타난다고 하였다.

한편 WIN 55,212-2의 %MPE는 본 실험에서 사용한 최대 용량에서 59%로 제한적이었다. 보고에 의하면 척수강 cannabinoids는 포르말린 유발 통증을 억제하였으며 carrageenan 유발 통증 모형에서는 열성 통각과민을 차단하였다. 반면 통증이 유발되지 않은 정상 상태에서는 열 자극에 대하여 효과가 없었다.⁶⁾ 따라서 이상의 보고와 본 실험 결과를 종합해보면 cannabinoids 수용체는 열 자극과 같은 급성 통증 조절에 대한 역할은 조직 손상에 의해 유발된 통증 조절 역할에 비해 약하다는 것을 시사한다. 이는 역으로 cannabinoids가 조직 손상에 의한 통증에 더 효과적이라는 것을 가리킨다. 그러나 다른 보고에^{3,5)} 의하면 cannabinoids는 열 자극에도 효과적이라고 하였다. 이러한 차이는 정확히 알 수는 없지만 사용한 실험 약물 종류, 투여경로, 통증 모형 및 실험동물 종류 등에 의해 발생했을 것으로 사료된다. 한편 본 실험에서 사용한 용량보다 많은 용량의 WIN 55,212-2는 행동 둔화나 강경증을 일으켜 더 이상의 실험을 진행하

지 못했다.

WIN 55,212-2 투여 후 1주, 2주, 3주 및 4주에 측정된 회피 반응 시간의 %MPE는 투여 첫날 측정치와 차이를 보이지 않았다. 이는 cannabinoids 수용체 작용제인 WIN 55,212-2를 최소 4주까지 척수강 내로 장기간 투여하여도 내성이 발생하지 않는다는 것을 시사한다. 반면 WIN 55,212-2의 %MPE가 시간이 흐름에 따라 유의성은 없었지만 감소하는 경향을 보였다. 따라서 cannabinoids를 본 실험보다 더 장기간 척수강 내로 투여하였을 경우의 결과에 대한 연구가 향후 필요 할 것으로 사료된다. 아울러 본 연구보다 많은 용량을 투여 한 후의 결과도 평가되어야 한다. 이를 위해서는 행동 둔화나 강경증 등과 같은 부작용을 일으키지 않는 cannabinoid 수용체 선택적 작용제의 개발도 중요할 것으로 사료된다.

WIN 55,212-2의 지속적 척수강 투여 후 시행한 조직 검사상 1주 후에는 척수강 카테터 주변으로 약간의 섬유성 세포와 염증성 세포만이 관찰되었고 다른 병적 소견은 발견되지 않았다. 4주 후에는 카테터 주변부위의 염증성 세포도 관찰되지 않았다. 이상의 소견은 cannabinoids 수용체 작용제인 WIN 55,212-2를 척수강 내로 최소 4주간 투여하여도 조직학적으로는 이상소견을 초래하지 않는다는 것을 시사한다.

요약하면 cannabinoids 수용체 작용제인 WIN 55,212-2는 척수수준에서 열 자극 통증에 대한 제한적인 진통효과를 나타냈다. 또한 이러한 진통작용은 4주간 동안 척수강 내로 장기 투여한 후에도 효과에 변화가 없었으며 비정상적인 행동 등 부작용도 일으키지 않았다. 조직학적으로도 병적 소견을 초래하지 않았다. 따라서 이상의 소견은 척수에서 cannabinoids 수용체 작용제의 장기간 투여에 대한 효과 및 안정성에 대한 기초토대를 제공 할 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Rice AS: Cannabinoids and pain. *Curr Opin Investig Drugs* 2001; 2: 399-414.
2. Pertwee RG: Cannabinoid receptors and pain. *Prog Neurobiol* 2001; 63: 569-611.
3. Novelli GP, Peduto VA, Bertol E, Mari F, Pieraccioni E: Analgesic interaction between nitrous oxide and delta-9-tetrahydrocannabinol in the rat. *Br J Anaesth* 1983; 55: 997-1000.
4. Lichtman AH, Martin BR: The selective cannabinoid antagonist SR 141716A blocks cannabinoid-induced antinociception in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1997; 57: 7-12.
5. Mason DJ Jr, Lowe J, Welch SP: Cannabinoid modulation of dynorphin A: correlation to cannabinoid-induced antinociception. *Eur J Pharmacol* 1999; 378: 237-48.
6. Richardson JD, Aanonsen L, Hargreaves KM: Antihyperalgesic effects of spinal cannabinoids. *Eur J Pharmacol* 1998; 345: 145-53.
7. Martin WJ, Loo CM, Basbaum AI: Spinal cannabinoids are anti-

- allodynic in rats with persistent inflammation. *Pain* 1999; 82: 199-205.
8. Drew LJ, Harris J, Millns PJ, Kendall DA, Chapman V: Activation of spinal cannabinoid 1 receptors inhibits C-fibre driven hyperexcitable neuronal responses and increases [³⁵S]GTPγS binding in the dorsal horn of the spinal cord of noninflamed and inflamed rats. *Eur J Neurosci* 2000; 12: 2079-86.
 9. Johannek LM, Heitmiller DR, Turner M, Nader N, Hodges J, Simone DA: Cannabinoids attenuate capsaicin-evoked hyperalgesia through spinal and peripheral mechanisms. *Pain* 2001; 93: 303-15.
 10. Gühring H, Schuster J, Hamza M, Ates M, Kotalla CE, Brune K: HU-210 shows higher efficacy and potency than morphine after intrathecal administration in the mouse formalin test. *Eur J Pharmacol* 2001; 429: 127-34.
 11. Burstein SH, Friderichs E, Kogel B, Schneider J, Selve N: Analgesic effects of 1',1' dimethylheptyl-delta8-THC-11-oic acid (CT3) in mice. *Life Sci* 1998; 63: 161-8.
 12. Yoon MH, Choi JI: Pharmacologic interaction between cannabinoid and either clonidine or neostigmine in the rat formalin test. *Anesthesiology* 2003; 99: 701-7.
 13. Walker JM, Huang SM: Cannabinoid analgesia. *Pharmacol Ther* 2002; 95: 127-35.
 14. Yaksh TL, Rudy TA: Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiol Behav* 1976; 17: 1031-6.
 15. Yoon MH, Yaksh TL: The effect of intrathecal gabapentin on pain behavior and hemodynamics on the formalin test in the rat. *Anesth Analg* 1999; 89: 434-9.
 16. Schatz AR, Lee M, Condie RB, Pulaski JT, Kaminski NE: Cannabinoid receptors CB1 and CB2: a characterization of expression and adenylate cyclase modulation within the immune system. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; 142: 278-87.
 17. Hohmann AG, Briley EM, Herkenham M: Pre- and postsynaptic distribution of cannabinoid and mu opioid receptors in rat spinal cord. *Brain Res* 1999; 822: 17-25.
 18. Farquhar-Smith WP, Egertova M, Bradbury EJ, McMahon SB, Rice AS, Elphick MR: Cannabinoid CB(1) receptor expression in rat spinal cord. *Mol Cell Neurosci* 2000; 15: 510-21.
 19. Mackie K, Hille B: Cannabinoids inhibit N-type calcium channels in neuroblastoma-glioma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 3825-9.
 20. Pan X, Ikeda SR, Lewis DL: Rat brain cannabinoid receptor modulates N-type Ca²⁺ channels in a neuronal expression system. *Mol Pharmacol* 1996; 49: 707-14.
 21. Twitchell W, Brown S, Mackie K: Cannabinoids inhibit N- and P/Q-type calcium channels in cultured rat hippocampal neurons. *J Neurophysiol* 1997; 78: 43-50.
 22. Howlett AC, Fleming RM: Cannabinoid inhibition of adenylate cyclase. Pharmacology of the response in neuroblastoma cell membranes. *Mol Pharmacol* 1984; 26: 532-8.
 23. Deadwyler SA, Hampson RE, Bennett BA, Edwards TA, Mu J, Pacheco MA, et al: Cannabinoids modulate potassium current in cultured hippocampal neurons. *Receptors Channels* 1993; 1: 121-34.
 24. Hohmann AG, Martin WJ, Tsou K, Walker JM: Inhibition of noxious stimulus-evoked activity of spinal cord dorsal horn neurons by the cannabinoid WIN 55,212-2. *Life Sci* 1995; 56: 2111-8.
 25. Carta G, Gessa GL, Nava F: Dopamine D(2) receptor antagonists prevent delta(9)-tetrahydrocannabinol-induced antinociception in rats. *Eur J Pharmacol* 1999; 384: 153-6.
 26. Lichtman AH, Martin BR: Cannabinoid-induced antinociception is mediated by a spinal alpha 2-noradrenergic mechanism. *Brain Res* 1991; 559: 309-14.
 27. Burstein SH, Audette CA, Breuer A, Devane WA, Colodner S, Doyle SA, et al: Synthetic nonpsychotropic cannabinoids with potent antiinflammatory, analgesic, and leukocyte antiadhesion activities. *J Med Chem* 1992; 35: 3135-41.
 28. Hanus L, Breuer A, Tchilibon S, Shiloah S, Goldenberg D, Horowitz M, et al: HU-308: a specific agonist for CB(2), a peripheral cannabinoid receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 14228-33.