

Nalbuphine이 마우스의 일차 체액성 면역반응에 미치는 영향

윤 희 은, 표 명 윤*

숙명여자대학교 약학대학

Effects of Nalbuphine on the Primary Humoral Immune Response in Mice

Hee-Eun Yun and Myoung-Yun Pyo*

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

ABSTRACT

In order to investigate the effects of nalbuphine on immune system in mice, we examined the various immunological parameters. After single oral administration of nalbuphine (130, 260, 390 mg/kg, i.p.) to female ICR mice, the weights of bodies and organs (thymus, spleen, liver, kidney), and hematological parameters were examined on day 2, 4, 6, and 8. The increased rate of body weight, relative weight of organ, and hematological parameters in nalbuphine-treated groups, were not significantly changed when compared with control group. However, number of WBC was decreased by the treatment of nalbuphine. To assess the effects of nalbuphine on humoral immune responses, splenic IgM plaque forming cell (PFC) and serum IgM were assayed. When nalbuphine was administered after immunization with SRBC, but not before immunization, splenic IgM PFC and serum IgM level against SRBC were significantly lowered in a dose-dependent manner. These results indicate that the suppressive effects of nalbuphine on primary humoral immune response may be dependent on the timing of its administration relative to the initial antigenic sensitization.

Key words : nalbuphine, IgM PFC, serum IgM

서 론

Nalbuphine hydrochloride (N-cyclobutyl-methyl-7, 8-dihydro-1, 4 hydroxynormorphine hydrochloride, 이하 nalbuphine이라 칭함)는 마약성 길항제인 naloxone과 강력한 마약성 진통제인 oxymorphone과 구조적으로 유사하며, 진통목적으로 분만이나 수술 전 후 사용되고 있다(Cada *et al.*, 1999).

Nalbuphine은 정맥 주사 후 수분 이내에 진통효

과가 발현되어 최대 효과는 30분 이내에 나타나고 지속시간은 2.5시간 정도이며(Lo *et al.*, 1983), 같은 양의 morphine 투여시와 거의 동등한 강력한 진통 효과를 나타내고 지속시간도 유사하며, 장기간 사용할 때 독성 작용도 약하여 만성 암 환자의 통증을 치료하는데 morphine의 효과적인 대체물로 보고(Stambaugh, 1982)되어 현재 임상적으로 사용되고 있다.

임상실험을 통한 남용 가능성, 의존성의 예는 거의 보고된 바가 없었으며 nalbuphine이 투여된 1,066명의 환자에게서 두통(3%), 현기증(5%), 구토(6%), 구갈(6%)이 극히 낮게 나타났고, 다른 부작용

* To whom correspondence should be addressed.

Tel: +82-2-710-9573, E-mail: mypyo@sookmyung.ac.kr

용도 거의 없는 약물로 보고되어 (Reynolds, 1993) 어느 나라에서도 마약류로 분류되거나 법적 제재를 받고 있지 않은 실정이다.

그러나 McBride (1996)는 암거래상을 통해 nalbuphine 과량을 상습적으로 복용한 사람들에게서 의존성 및 금단증상과 마약 남용에서나 나타날 수 있는 갖가지 부작용의 예를 보고하면서, nalbuphine의 법적 규제마련이 재검토되는 것을 주장하였다. 또한 우리나라의 경우 국립과학수사연구소 보고에 의하면 향정신성 의약품 중 하나로서 각성제, 우울증치료제로 사용되고 있는 methamphetamine이 값이 비싸지고 구하기 어려워지자 methamphetamine의 대용으로 1991년 이후로 nalbuphine이 남용되기 시작하였으며, nalbuphine 남용이 methamphetamine 남용에 대비해 1992년에 2.7%, 1993년에 7.7%로 해마다 증가하고 있는 실정이 보고되었다 (Yoo *et al.*, 1995). 이와 같이 남용정도가 심각해짐에 따라 nalbuphine을 2001년 1월에 향정신성의약품으로 지정하여 규제하고 있다 (Chung, 2002).

면역계는 생체의 기관 중 가장 예민하게 반응할 수 있는 표적기관의 하나이므로 최근에는 약물 및 환경독성물질의 일반작용 및 독성작용 뿐만 아니라 면역독성학적인 평가의 필요성이 강조되고 있으며 (Smialowicz and Holsapple, 1996), 남용되고 있는 대마초의 주성분인 delta 9-tetrahydrocannabinol (Kaminski, 1994; Matveyeva *et al.*, 2000), morphine (LeVier *et al.*, 1994) 등이 면역억제를 유발한다고 보고되었다. 그런데 nalbuphine이 생체의 면역계에 미치는 영향에 관한 연구는 별로 보고된 바가 없으므로 본 연구에서는 마우스에 nalbuphine을 투여하여 체중 및 장기무게 변화, 혈액학적 변화와 면양적혈구 (SRBC) 항원주사 전과 후에 nalbuphine을 투여하여 비장세포 중의 용혈반 생성 세포수 (PFC수)와 혈청중의 IgM항체 생성 정도를 측정하여 일차 체액성 면역반응에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

3~4주령인 ICR계 암컷 마우스를 유한양행 중

양연구소로부터 분양받아 고휘사료와 물을 자유롭게 공급하면서 실험동물실에서 2~3주간 적응시킨 후, 건강상태가 양호한 6~8주령 (25±2g)의 마우스를 실험에 사용하였다. 실험동물실의 온도는 21~24°C, 습도는 40~60%로 유지하였고 조명은 12시간 간격으로 조정하였다.

2. 실험물질 조제 및 투여

실험물질 nalbuphine · HCl은 (주)제일약품에서 분양받았으며, 마우스 체중 10g당 0.1 mL 투여할 수 있는 농도로 생리식염수에 용시 조제하여 사용하였다. Nalbuphine의 투여용량을 결정하기 위하여 ICR 암컷 마우스에 용량별로 (500, 550, 600, 650, 700, 750 mg/kg) 1회 복강내 주사한 후 생사여부를 14일간 관찰하고 Litchfield & Wilcoxon법 (Litchfield and Wilcoxon, 1943)을 이용하여 LD₅₀을 산출한 결과, LD₅₀ (i.p.)는 650 mg/kg이었다. 이와 같이 산출된 nalbuphine의 LD₅₀의 20, 40, 60%에 해당하는 130 (저용량), 260, 390 (고용량) mg/kg 용량을 마우스에 1회 복강 내에 주사하였다. 모든 실험에서 실험군당 마우스를 6마리로 하고, 대조군에는 생리식염수를 같은 방법으로 투여하였다.

3. 체중 및 장기무게 변화 측정

실험시작하기 전 약 16시간동안 절식하여 체중을 측정하였으며, 체중변화는 nalbuphine 투여일의 체중을 기준 (100)으로 하여 실험일의 증가된 체중으로 나타내었다. 또한, 각 장기무게 변화는 실험일에 실험동물의 비장, 흉선, 간장, 신장을 적출하여 각각의 무게를 실험일의 체중에 대한 백분율 (%)로 나타내었다.

4. 혈액학적 parameter 측정

마우스의 안정맥총에서 heparinized capillary (Chase instruments Co.)로 채혈하여 EDTA (K3)가 들어있는 시험관 (Sherwood medical)에 취하고 roll mixer로 혼화한 후 WBC (white blood cell), RBC (red blood cell), HGB (hemoglobin), HCT (hematocrit), MCV (mean corpuscular volume), MCH (mean corpuscular hemoglobin), MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration), PLT (platelet)를 Coulter

counter (T-890, Coulter)로 측정하였다. Coulter counter는 사용 전에 4C[®] plus 액으로 WBC, RBC, HGB, HCT, PLT값을 표준용액에 맞게 보정한 후 혈액을 분석하였다.

5. 비장세포중의 IgM 용혈반 생성 세포수 측정

1) 면역 및 실험물질 투여

일차면역에서 비장세포의 IgM항체 용혈반 생성 세포수 (plaque forming cell: PFC)를 측정하기 위한 항원으로 한국유니온랩에서 구입한 면양적혈구 (sheep red blood cell: SRBC)를 4°C에 보관하여 3주 이내에 사용하였다. 사용직전 PBS용액으로 3회 원심세척 (2,500 rpm, 5 min, 4°C)한 후, SRBC농도가 2×10^9 cells/mL가 되도록 PBS용액으로 조정하였으며, 이 부유액 0.2 mL (4×10^8 cells)을 면역일 (day 0)에 모든 실험동물의 복강내에 주사하였고, nalbuphine을 농도별로 면역 2일 전 또는 2일 후에 투여하였다.

2) 비장세포액의 조제

면역일 (day 0)로부터 4일 후에 모든 실험동물군의 비장을 적출하여 빙냉의 HBSS에 넣고 teflon pestle을 이용하여 100 mesh stainless sieve를 통과시켜 비장세포액을 만들었다. 이 세포액에 RBC lysis buffer를 가한 후 원심분리 (1,000 rpm, 10 min, 4°C)하여 적혈구를 용혈시킨 후 상등액을 제거하고 침전된 비장세포에 일정량의 HBSS용액을 가하여 viable cell을 trypan blue exclusion method (Mischell and Shiigi, 1980)로 측정하여 2×10^6 cells/mL의 비장세포 현탁액을 만들었다.

3) 면양적혈구 (SRBC)액의 조제

4°C에 보관된 SRBC를 사용직전에 HBSS용액으로 3회 원심세척 (2,500 rpm, 5 min, 4°C)한 후 5×10^9 cells/mL의 농도로 부유시켰다.

4) 항체 생성 세포수 (PFC)의 측정

Cunningham의 방법 (Cunningham and Szenberg, 1968)을 약간 변형시킨 방법 (Loren, 1974)을 이용하여 IgM PFC수를 측정하였다. SRBC부유액 (5×10^9 cells/mL) 0.5 mL, guinea pig complement 0.3 mL, 10% FBS-HBSS용액 2.0 mL를 혼합한 액 50 μ L와 비장세포 현탁액 (2×10^6 cells/mL) 50 μ L를 혼합하여 microchamber에 35 μ L씩 주입하고,

vaseline과 paraffin (1 : 1) 혼액으로 밀봉하여 37°C에서 1시간 방치한 후 형성되는 용혈반 생성 세포수를 현미경하에서 측정하였다. 측정된 PFC수를 비장세포 10^6 개중의 항체생성 세포수로 환산하여 나타내었다.

6. 혈중 IgM 항체 생성능 측정

1) 항혈청 분리

면역 및 실험물질 투여를 위와 동일한 방법으로 행하였고, 항원주사 후 4일째에 실험동물의 안정맥총에서 heparin 처리되지 않은 모세관으로 채혈하고, 37°C에서 2시간 방치하여 응고시킨 후 원심분리 (3,200 rpm, 15 min, 4°C)하여 혈청을 취하여 실험하기 전까지 -20°C에서 보관하였다.

2) IgM 항체 측정

실험직전에 보관된 혈청을 56°C에서 30분간 방치하여 불활성화 시켜 사용하였으며, enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)로 혈청 중 IgM항체를 측정하였다. 즉, anti-mouse IgM을 0.05% NaN₃-PBS (1 : 1000)로 희석하여 96well microtiter tray에 well당 50 μ L씩 도포한 후 4°C에서 18시간 방치하여 anti-mouse IgM이 well 바닥에 부착되도록 하였다.

잔여 anti-mouse IgM용액을 제거한 후 well을 washing solution으로 3회 세척하였으며, 모든 세척 과정은 이와 동일하게 행하였다. Milk protein Ig을 PBS-N용액 100 mL에 용해시킨 blocking buffer를 각 well당 50 μ L씩 가한 후 37°C에서 30분간 방치한 후 세척하였다. 각 실험동물의 불활성화시킨 혈청 원액을 blocking buffer로 계열 희석하여 각 well당 100 μ L씩 가한 다음 37°C에서 1시간 동안 방치한 후 혈청을 제거하고 세척하였다. Blocking buffer로 500배 희석한 anti-mouse IgM alkaline phosphatase conjugate를 각 well에 100 μ L씩 가하여 37°C에서 1시간 방치시킨 후 기질용액 (p-nitrophenyl phosphate) 100 μ L/well를 가하여 37°C에서 30분 경과 후, 1N-NaOH를 각 well당 50 μ L씩 가하여 반응을 종료시켰다. Microplate reader (Dynatech MR5000, U.S.A.)로 각 well의 optical density (O.D., 405 nm)를 측정하고 대조군의 흡광도와 비교하였다.

7. 통계학적 처리

각 실험군의 측정값의 평균과 표준편차를 구하고, 대조군과의 차이를 student's t-test를 이용하여 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 체중 및 장기 무게에 미치는 영향

Nalbuphine을 130, 260, 390 mg/kg 용량으로 마우스의 복강 내에 주사한 후, 2, 4, 6, 8일째에 체중증가율과 체중에 대한 장기중량비를 측정하였다.

실험물질 투여일의 체중을 기준(100)으로 하여 각 실험일의 체중 증가율을 관찰한 결과, nalbuphine의 체중 증가율은 대조군과 유사하였다(Table 1).

또한 각 실험군의 체중에 대한 장기무게의 중량비도 약물을 투여하지 않은 대조군에 비교해 보면 유의성 있는 변화는 나타나지 않아(Table 2) nalbuphine 1회 투여에 의해서는 체중 및 장기무게는 크게 영향을 받지 않는 것으로 보인다.

2. 혈액학적 parameter에 미치는 영향

마우스에 nalbuphine을 용량별(130, 260, 390 mg/kg)로 투여한 후 2, 4, 6, 8일째에 순환말초혈관

Table 1. The increased rate of body weight (%) after nalbuphine administration

Exp. groups (mg/kg)	Day 0	Day 2	Day 4	Day 6	Day 8
Control	100	104.3±2.2	107.2±6.9	102.5±7.5	108.7±6.0
130	100	106.8±2.3	101.7±2.6	102.6±4.7	102.9±1.5
260	100	104.6±2.0	104.4±1.8	104.4±5.5	104.3±2.0
390	100	105.4±1.6	104.5±2.6	98.3±3.4	103.7±4.1

Nalbuphine was administered with dose 130, 260, 390 mg/kg to ICR mice. Mice were sacrificed on day 2, 4, 6, 8 following administration of nalbuphine. The increased rate of body weight = (final weight/initial weight) × 100. Each value is the mean ± S.D. of 6 mice.

Table 2. Relative weight of organ in mice administered nalbuphine

Exp. groups (mg/kg)	Thymus/b.w. × 100 (%)	Spleen/b.w. × 100 (%)	Liver/b.w. × 100 (%)	Kidney/b.w. × 100 (%)
<u>Day 2</u>				
Control	0.26±0.01	0.38±0.07	5.12±0.31	1.27±0.05
130	0.32±0.04*	0.44±0.15	5.20±0.18	1.38±0.08
260	0.30±0.02*	0.40±0.06	4.81±0.39	1.29±0.11
390	0.24±0.07	0.40±0.07	5.06±0.69	1.15±0.07*
<u>Day 4</u>				
Control	0.30±0.04	0.43±0.09	4.53±0.50	1.29±0.12
130	0.32±0.07	0.41±0.05	4.87±0.19	1.38±0.09
260	0.34±0.04	0.44±0.19	4.73±0.48	1.32±0.06
390	0.26±0.04	0.46±0.12	4.90±0.64	1.35±0.13
<u>Day 6</u>				
Control	0.26±0.03	0.43±0.06	4.71±0.19	1.37±0.08
130	0.33±0.04*	0.45±0.05	4.62±0.56	1.42±0.13
260	0.29±0.07	0.48±0.09	5.04±0.29	1.39±0.09
390	0.25±0.06	0.47±0.04	4.68±0.34	1.37±0.03
<u>Day 8</u>				
Control	0.29±0.07	0.44±0.10	4.56±0.28	1.20±0.10
130	0.29±0.05	0.38±0.08	4.56±0.26	1.17±0.06
260	0.25±0.09	0.42±0.11	4.75±0.36	1.27±0.11
390	0.24±0.02	0.44±0.04	4.31±0.19	1.29±0.18

See legend to Table 1 for experimental details. Each value is the mean ± S.D. of 6 mice. Significant difference from control (*p < 0.05).

내의 혈액학적 성상을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 백혈구수 (WBC)는 130 mg/kg 투여군에서 6일째 (4.90±1.36)에 대조군 (9.13±3.03)에 비하여 크게 감소했으나, 8일째 (10.78±1.69)에는 대조군 (9.50±0.10)과 비슷해지는 경향을 보였다. 260 mg/kg투

Table 3. Hematological parameters in mice administered nalbuphine.

Exp. groups (mg/kg)	Day 2	Day 4	Day 6	Day 8
WBC ($10^3/\text{mm}^3$)				
Control	6.48±1.76	8.50±2.85	9.13±3.03	9.50±0.10
130	7.95±1.95	8.38±2.63	4.90±1.36	10.78±1.69
260	6.25±1.40	7.98±1.10	6.16±1.55	8.70±0.60
390	5.83±1.23	7.30±3.45	4.73±0.38	6.24±1.28**
RBC ($10^3/\text{mm}^3$)				
Control	8.55±0.32	8.65±0.72	8.13±0.44	8.69±0.23
130	8.41±0.22	7.99±0.40	8.24±0.24	8.55±0.12
260	8.46±0.58	8.49±0.22	8.18±0.09	8.71±0.12
390	8.26±0.29	8.40±0.27	8.32±0.50	8.60±0.17
HGB (g/dL)				
Control	17.13±0.21	16.30±2.52	16.60±0.58	17.22±0.68
130	16.55±0.48	16.08±1.11	16.60±0.42	17.40±0.64
260	16.98±1.18	17.05±0.31	16.70±0.44	17.50±0.83
390	16.95±0.58	16.85±0.60	16.83±1.31	16.93±0.40
HCT (m/dL)				
Control	42.50±2.07	42.95±3.55	41.75±2.75	47.78±2.43
130	40.88±1.38	40.65±1.82	42.25±1.08	44.60±2.34
260	41.70±2.90	44.00±1.30	41.60±1.90	45.73±4.01
390	41.33±1.19	43.15±1.88	43.25±3.30	44.98±2.25
MCV (μm^3)				
Control	49.70±1.73	48.53±1.13	51.45±3.66	53.30±2.04
130	48.70±2.09	50.90±0.61*	51.28±1.94	53.05±2.72
260	49.35±2.45	51.83±2.70	50.80±1.97	53.27±2.75
390	50.03±0.98	51.33±0.84**	51.90±1.90	53.80±1.70
MCH (pg)				
Control	20.05±0.59	18.80±1.66	20.45±0.87	20.02±0.29
130	19.37±0.21	20.18±0.79	20.13±0.68	20.46±0.54
260	20.05±0.51	20.10±0.39	20.43±0.33	20.13±0.63
390	20.53±0.43	20.05±0.25	20.18±0.55	19.90±0.27
MCHC (g/dL)				
Control	40.40±1.68	38.68±3.20	39.85±1.43	38.12±0.68
130	40.43±1.68	39.60±1.46	39.28±0.52	38.55±1.65
260	40.75±1.14	38.85±1.38	40.18±1.08	38.38±1.37
390	41.00±0.34	39.03±0.33	38.88±0.51	37.25±1.63
PLT ($10^3/\text{mm}^3$)				
Control	707.25±186.95	760.25±122.74	836.33±66.58	950.33±107.40
130	916.50±314.69	825.25±242.47	784.50±169.10	894.80±156.71
260	845.00±182.76	857.25±206.57	856.25±99.52	1127.00±62.85*
390	805.75±126.27	793.75±68.14	847.25±169.75	984.00±156.32

See legend to Table 1 for experimental details. Hematological parameters were assayed by Coulter counter. Each value is the mean±S.D. of 6 mice. Significant difference from control (*p<0.05, **p<0.01).

여군에서도 6일째 (6.16 ± 1.55)에 대조군 (9.13 ± 3.03)에 비해 유의성은 없으나, 현저히 감소하는 경향을 보이다가 8일째 (8.70 ± 0.60)에 다소 증가되었다. 그러나 고용량인 390 mg/kg 투여군에서는 2일째 (5.83 ± 1.23), 4일째 (7.30 ± 3.45)에도 각각의 대조군 (6.48 ± 1.76 , 8.50 ± 2.85)에 비해 약간 감소하였고, 6일째 (4.73 ± 0.38)에는 현저히 감소하고, 8일째 (6.24 ± 1.28)에도 대조군 (9.50 ± 0.10)에 비해 유의성 ($p < 0.01$)있게 감소하였다. 이와 같이 nalbuphine의 저용량으로 감소된 백혈구수는 시일이 경과함에 따라 회복됨을 볼 수 있었으나 고용량에서는 회복이 어려움을 알 수 있었다.

적혈구수(RBC), HGB, HCT는, nalbuphine 투여군의 경우, 용량과 투여 후 시일경과에 관계없이 대조군과 비슷한 수치를 나타내었으며, 혈구의 용적비와 관계되는 parameter인 MCV, MCH, MCHC에서는 MCV가 nalbuphine 투여군에서 약간 증가했을 뿐 별다른 변화를 관찰할 수 없었다.

3. 일차 체액성 면역반응에 미치는 영향

1) 항원접촉 전에 nalbuphine이 투여되었을 경우 항원주사 2일전 (day-2)에 nalbuphine을 마우스에 130, 260, 390 mg/kg으로 투여하고, 항원주사 후 4일째에 비장과 혈액을 채취하여 비장세포 중 IgM

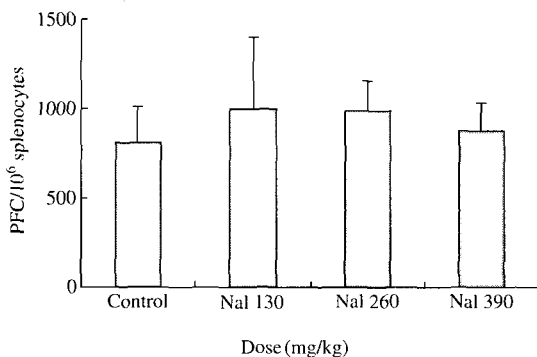


Fig. 1. IgM plaque forming cell (PFC) to SRBC in mice administered nalbuphine on the 2nd day before immunization. Nalbuphine was i.p. administered with dose of 130, 260, 390 mg/kg to ICR mice on day-2. Mice were i.p. immunized with SRBC-antigen on day 0. Splenic IgM PFC was assayed on day 4. Each value is the mean \pm S.D. of 16 mice. Significant difference from control.

Table 4. Serum IgM level in mice administered nalbuphine on the 2nd day before immunization

Exp. groups (mg/kg)	IgM level (O.D.)			
	Raw	1:2	1:4	1:8
Control	0.47 ± 0.20	0.37 ± 0.09	0.28 ± 0.06	0.18 ± 0.05
130	0.59 ± 0.08	0.41 ± 0.15	0.31 ± 0.09	0.20 ± 0.06
260	0.47 ± 0.18	0.35 ± 0.16	0.27 ± 0.12	0.18 ± 0.05
390	0.48 ± 0.10	0.34 ± 0.10	0.27 ± 0.09	0.18 ± 0.04

See legend to Fig. 1, for experimental details. Serum IgM was assayed by ELISA. Each value is the mean \pm S.D. of 16 mice.

항체 생성 세포수와 혈청 중 IgM항체량을 측정하여 nalbuphine이 일차 체액성 면역반응에 미치는 영향을 알아보았다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이 비장세포 10^6 개당 PFC생성수는 대조군에 비해 130, 260 mg/kg의 경우 유의성은 없으나 다소 증가하는 경향을 보이고, 390 mg/kg 투여군의 경우에는 대조군과 비슷하였다.

실험동물의 혈청 중 IgM항체량 (Table 4)도 대조군에 비해 nalbuphine 130 mg/kg 투여군에서 약간 증가하는 경향을 보였으나 유의성은 없었으며, 나머지 투여군에 있어서는 거의 비슷하여 PFC와 유사한 결과를 나타내었다.

이 결과들을 볼 때 항원접촉 전에 nalbuphine 투여를 할 경우에는 비장세포 중 PFC수와 혈청 IgM항체량이 크게 변화되지 않아 일차 체액성 면역반응에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 보여진다.

2) 항원접촉 후에 nalbuphine이 투여되었을 경우 Nalbuphine이 SRBC항원에 대한 일차 체액성 면역반응에 미치는 영향을 보기 위하여 항원주사 2일 후 nalbuphine을 마우스에 130, 260, 390 mg/kg으로 투여하고, 항원주사 후 4일째에 실험동물의 비장과 혈액을 채취하여 비장세포 중 IgM항체 생성 세포수와 혈청중의 IgM항체 생성정도를 측정하였다.

Fig. 2에서 보여지는 바와 같이 비장세포 10^6 개당 PFC수는 대조군에 비해 용량의존적으로 감소하였고, 특히 LD₅₀의 60%에 해당하는 nalbuphine 390 mg/kg 투여군에서는 대조군에 비해 유의성있게 ($p < 0.01$) 현저히 감소하였다.

혈청 IgM항체도 PFC의 결과와 같이 대조군에 비해 nalbuphine 투여군의 IgM항체량은 용량의존

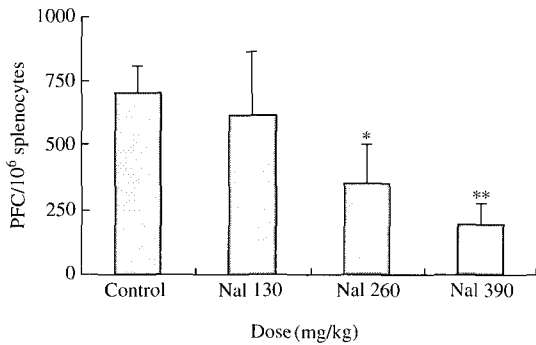


Fig. 2. IgM plaque forming cell (PFC) to SRBC in mice administered nalbuphine on the 2nd day after immunization. Mice were i.p. immunized with SRBC-antigen on day 0 and i.p. administered with nalbuphine (130, 260, 390 mg/kg) on the day 2. Splenic IgM PFC was assayed on day 4. Each value is the mean \pm S.D. of 16 mice. Significant difference from control (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

Table 5. Serum IgM level in mice administered nalbuphine on the 2nd day after immunization

Exp. groups (mg/kg)	IgM level (O.D.)			
	Raw	1:2	1:4	1:8
Control	0.49 \pm 0.09	0.38 \pm 0.12	0.28 \pm 0.09	0.18 \pm 0.03
130	0.46 \pm 0.10	0.33 \pm 0.12	0.24 \pm 0.10	0.17 \pm 0.04
260	0.35 \pm 0.12*	0.31 \pm 0.09	0.24 \pm 0.11	0.14 \pm 0.05
390	0.33 \pm 0.13*	0.24 \pm 0.06**	0.20 \pm 0.09	0.14 \pm 0.03

See legend to Fig. 2. for experimental details. Serum IgM was assayed by ELISA. Each value is the mean \pm S.D. of 6 mice. Significant difference from control (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

적으로 감소했으며, 특히 260, 390 mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 유의성있게 ($p < 0.01$) 감소하였다 (Table 5).

이상의 실험결과, 항원주사 전에 nalbuphine이 투여되면 일차 체액성 면역 반응에 별다른 영향을 미치지 않는 것으로 보여졌으나, 항원주사 후에 nalbuphine이 투여되면 일차 체액성 면역 반응이 용량의존적으로 현저히 억제되었다.

결 론

Nalbuphine · HCl을 투여용량 (LD_{50} 의 20, 40,

60%에 해당하는 양인 130, 260, 390 mg/kg)과 투여일을 변화시켜 마우스 복강 내에 주사한 후, 체중, 장기무게 및 혈액학적 parameters에 미치는 영향을 측정된 결과, 백혈구수는 투여 후 6일째에 감소되었고, 저용량의 경우에는 8일째에는 대조군과 비슷하여져 회복되는 경향을 보였으나, 고용량의 경우에는 회복되지 않았다. 체중의 증가율, 장기중량비 및 WBC를 제외한 혈액학적 parameters는 대조군에 비해 큰 변화를 나타내지 않았다.

SRBC항원주사 전에 nalbuphine을 투여했을 때에는 저용량에서 비장세포의 용혈반생성 세포수 (PFC)와 IgM항체 생성이 유의성없이 다소 증가하는 경향을 보이고 고용량에서는 대조군과 비슷하였다. 그러나 항원주사 후에 nalbuphine을 투여했을 경우에는 용혈반 생성 세포수와 IgM항체 생성이 용량의존적으로 유의성있게 현저히 감소되었다. 이상의 연구결과, nalbuphine은 항원과 접촉 전에 생체에 투여되면 마우스의 일차 체액성 면역반응에 크게 영향을 주지 않으나, 항원접촉 후에 투여되면 일차 체액성 면역반응을 억제시키는 것으로 보인다.

감사의 말씀

본 연구는 2004년도 숙명여자대학교 교내연구비 지원에 의해 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Cada DJ, Covington T, Hebel SK, Hussar DA, Lasagna L and Olin BR. Drug facts and comparisons, 1999 Edition, Facts and Comparisons 1999, pp 1433-1434.
- Chung HS. Pharmacokinetics of nalbuphine in overdose as a psychotropic agent, Annual Report of N.I.S.I., 2002; 34: 149-154.
- Cunningham A and Szenberg A. Further improvements in plaque technique for detecting single antibody-forming cells, Immunol 1968; 14: 599-600.
- Kaminski NE. Mechanism of immune modulation by cannabinoids, in Dean JH, Luster MI, Munson AE, Kimber I (eds): Immunotoxicology and Immunopharmacology, 2d ed. New York: Raven Press, 1994, pp. 349-362.
- LeVier DG, McCay JA and Stern ML. Immunotoxicological

- profile of morphine sulfate in B6C3F1 mice, *Fundam Appl Toxicol* 1994; 22: 525-542.
- Litchfield JT and Wilcoxon F. A simplified Method of Evaluating Dose-effect Experiments, *J Pharmacol Exp Ther* 1943; 96: 99-113.
- Lo MW, Schary WL and Whitney CC. The disposition and bioavailability of intravenous and oral nalbuphine in healthy volunteers, *J Clin Pharmacol* 1983; 27: 866-873.
- Loren DK. Decreased antibody formation in mice exposed to lead, *Nature* 1974; 250: 148-250.
- Matveyeva M, Hartman CB and Harrison MT. Delta (9)-tetrahydrocannabinol selectively increases aspartyl cathepsin D proteolytic activity and impairs lysosomal processing in macrophages, *Int J Immunopharmacol* 2000; 22(5): 373-381
- McBride AJ. Three cases of nalbuphine hydrochloride dependence associated with anabolic steroid use, *Br J Sports Med* 1996; 30: 69-70.
- Mischell BB and Shiigi SM. Selected methods in cellular immunology, WH Freeman and Company, San Francisco, U.S.A.. 1980, pp. 16-17.
- Reynolds EF. In Martindale The Extra Pharmacopoeia, 13th ed., *Pharmaceutical Press*, London, England, 1993, pp. 1090.
- Smialowicz RJ and Holsapple MP. *Experimental Immunotoxicology* Boca Raton, FL, CRC Press, 1996, pp. 13-15.
- Stambaugh JE. Evaluation of nalbuphine; Efficacy and Safety in the Management of Chronic Pain Associated With Advanced Malignancy, *Current Therapeutic Research*. 1982; 31(3): 393-401.
- Yoo YC, Chung HS and Kim IS. Determination of Nalbuphine in Drug Abuser' Urine, *J of Analytical Toxicology* 1995; 19: 120-123.