ORIGINAL ARTICLE
eISSN 2005-7571
Korean J Biol Psychiatry 2020;27(1):27-35
https://doi.org/10.22857/kjbp.2020.27.1.004

다양한 마취하 용량에서 케타민에 의해 유발된 청소년기 및 성체 마우스의 행동학적 변화

국립정신건강센터 정신보건연구과,[1] 국립정신건강센터 정신건강연구소,[2] 전남대학교 의과대학 정신건강의학교실[3]
최형준[1] · 임수정[1] · 박해리[1] · 이성미[1] · 김철응[2] · 류승형[3]

Ketamine-Induced Behavioral Effects Across Different Sub-Anesthetic Dose Ranges in Adolescent and Adult Mice

Hyung Jun Choi, DVM,[1] Soo Jung Im, MS,[1] Hae Ri Park, AS,[1]
Seong Mi Lee, MS,[1] Chul-Eung Kim, MD,[2] Seunghyong Ryu, MD[3]

[1]Department of Mental Health Research, National Center for Mental Health, Seoul, Korea
[2]Mental Health Research Institute, National Center for Mental Health, Seoul, Korea
[3]Department of Psychiatry, Chonnam National University Medical School, Gwangju, Korea

Objectives Ketamine has been reported to have antidepressant effects or psychotomimetic effects. The aim of this study was to investigate the behavioral effects of ketamine treatment at various sub-anesthetic doses in adolescent and adult naïve mice.

Methods In each experiment for adolescent and adult mice, a total of 60 male Institute of Cancer Research mice were randomly divided into 6 groups, which were intraperitoneally treated with physiological saline, 10, 20, 30, 40, and 50 mg/kg ketamine for consecutive 3 days. At 1 day after last injection, the locomotor and depressive-like behaviors were evaluated in mice, using open field test (OFT) and forced swim test (FST), respectively.

Results In case of adolescent mice, ketamine dose was negatively correlated with total distance traveled in the OFT (Spearman's rho = -0.27, p = 0.039). In case of adult mice, we found significant positive correlation between ketamine dose and duration of immobility in the FST (Spearman's rho = 0.45, p < 0.001). Immobility time in the 50 mg/kg ketamine-treated mice was significantly higher compared to the saline-treated mice (Dunnett's post-hoc test, p = 0.012).

Conclusions We found that the repeated treatment with ketamine could decrease the locomotor or prolong the duration of immobility in mice as the dose of ketamine increased. Our findings suggest that sub-anesthetic doses of ketamine might induce schizophrenia-like negative symptoms but not antidepressant effects in naïve laboratory animals.

Key Words Ketamine · Mouse · Open field test · Forced swim test.

Received: December 9, 2019 / **Revised:** January 22, 2020 / **Accepted:** March 20, 2020
Address for correspondence: Seunghyong Ryu, MD
Department of Psychiatry, Chonnam National University Medical School, 42 Jebong-ro, Dong-gu, Gwangju 61469, Korea
Tel: +82-62-220-5839, **Fax:** +82-62-225-2351, **E-mail:** ryush@chonnam.ac.kr

서 론

케타민(ketamine)은 N-methyl-D-aspartate(NMDA) 수용체의 길항제(antagonist)로서, 정신 신경계에 다양한 효과를 유발한다. 케타민은 해리성 마취제(dissociative anesthetics)로 처음 도입되었으나, 이후 그 진통 효과가 재조명되면서 현재는 마취하(sub-anesthetic) 용량에서 통증 조절 목적으로 널리 사용되고 있다.[1)] NMDA 수용체는 척수의 통증 전달 과정에서 구심성 통증 신호의 중추 감작(central sensitization)에 중요한 역할을 하는데,[2)] 케타민은 NMDA 수용체 이온 통로의 phencyclidine(PCP) 결합 부위에 결합하여 글루

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

타메이트(glutamate) 통로 복합체에 활동 의존성 비경쟁적 길항제(antagonist)로 작용하여 진통 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다.[3]

마취하 용량에서 케타민이 즉각적인 항우울 효과가 있다는 사실은 많은 연구자들의 주목을 끌었으며,[4] 이후 여러 연구들에서 케타민이 치료 저항성 우울증 환자의 치료에 효과가 있음이 확인되었다.[5-7] 케타민의 신속한 항우울 효과는 NMDA 수용체의 직접 차단 이외에도, gamma-aminobutyric acid(GABA) 작용성 사이신경세포(interneuron)에서 NMDA 수용체 억제, 자발적 NMDA 수용체 매개 전달의 억제, 시냅스 외(extrasynaptic) NMDA의 억제, 그리고 케타민 대사체 작용 등의 여러 메커니즘을 통해 이루어지는 것으로 추측된다.[8][9] 한편, 케타민의 빠른 항우울 효과에도 불구하고, 연구 대상자에게 해리 증상과 정신병적 유사 증상이 관찰되기도 한다.[10] 실제 케타민은 다른 비경쟁적 NMDA 길항제인 MK-801이나 PCP들과 유사하게 정상인에게서 정신병적 증상을 유발하거나 조현병 환자의 증상을 더욱 악화시키는 것으로 알려져 있다.[11] 이에, 케타민은 PCP와 함께 조현병의 약리적 동물 모델에서 이용되기도 한다.[12][13] 케타민은 GABA 신경계 신경세포에서 발현되는 NMDA 수용체를 우선적으로 억제하여, 피라미드 신경세포(pyarmidal neuron)에 대한 억제성 조절을 약화시켜 피라미드 신경세포를 탈억제(disinhibition)시키고, 흥분성 글루타메이트 신경전달을 강화하는 역할을 한다.[14][15] 이와 같은 대뇌 피질의 탈억제는 케타민의 신속한 항우울 효과를 설명하는 기전이기도 하나,[16] 신경회로에서 과도한 흥분성 자극과 빈약한 억제성 조절은 결과적으로 비정상적인 정보 처리, 신경세포에서의 산화 스트레스에 의한 세포자살(apoptosis), 그리고 신경회로에서의 기능부전을 초래하여 정신병적 증상을 유발시킬 수도 있다.[17][18]

케타민의 항우울 효과와 정신병적 증상 유발 효과는 전임상(preclinical) 연구를 통해서도 확인된 바 있다. 그러나, 강제 수영 검사(forced swim test)로 케타민의 효과를 평가한 이전 동물 행동 연구들은 그 연구의 목적에 따라 서로 상반된 결과를 보고하고 있다. 강제 수영 검사는 우울증 동물 모델을 평가하거나 실험 약물의 항우울 효과를 확인하는 데 흔히 사용되는 동물 행동 실험 기법으로, 우울의 정도를 움직임이 없는 부동 시간(immobility time)으로 계량하여, 부동 시간의 연장은 우울 상태로, 반대로 부동 시간의 감소는 항우울 효과로 해석된다.[19] 여러 전임상 연구들은 케타민 5~20 mg/kg을 투여받은 실험 동물의 강제 수영 검사에서 부동 시간이 감소되어 있음을 확인한 바 있다.[20][21] 반면, Chindo 등[22]은 30~50 mg/kg의 케타민을 랫드(rat)에 반복 투여하였을 경우, 강제 수영 검사에서 랫드의 부동 시간이 연장됨을 보고하였다. 또한, 클로자핀(clozapine)에 의해 연장된 부동 시간이 회복된다는 점을 근거로, 연구자들은 케타민에 의한 부동 시간의 증가를 조현병의 음성 증상(negative symptom)에 대한 동물 모델로 제안하였다.[22]

케타민 투여 후 강제 수영 검사의 상반된 결과를 설명할 수 있는 작용 기전은 알려져 있지 않다. 그러나, 기존 연구들을 종합하여 보면 투여하는 케타민의 용량에 따라 강제 수영 검사의 부동 시간에 차이가 나타난다고 추정해 볼 수 있다. 즉, 상대적으로 낮은 용량(5~20 mg/kg)의 케타민을 이용한 연구에서는 강제 수영 검사의 부동 시간이 단축되었으나,[20][21] 이보다 높은 용량(30~50 mg/kg)의 케타민을 투여한 연구의 경우 실험 동물의 부동 시간이 연장되는 결과를 나타냈다.[22] 또한, 케타민에 의해 유발되는 행동학적 변화가 성인기에 비해 청소년기에 더욱 민감하다는 일부 동물 행동 연구 결과들은 케타민 용량에 따른 행동 실험의 결과 양상이 청소년기와 성인기에서 다르게 나타날 수 있음을 시사한다.[23]

선행 연구들은 주로 저용량(5~20 mg/kg) 또는 고용량(30~50 mg/kg) 각각의 제한된 용량 범위에서 케타민의 행동학적 효과를 탐색하였다.[20-22] 이번 연구는 선행 연구의 결과들을 바탕으로 '마취하 용량의 케타민은 낮은 용량에서 항우울 효과를, 그리고 상대적으로 높은 용량에서는 정신병적 증상 유발 효과를 나타낸다.'는 연구 가설을 검증하고자 하였다. 이를 위해 넓은 범위의 케타민 용량(0~50 mg/kg)을 마우스(mouse)에 투여 후 행동학적 변화를 개방장 검사(open field test)와 강제 수영 검사를 이용하여 평가하였다. 또한, 본 연구는 발달 시기에 따라 케타민의 효과가 달라질 수 있음을 고려하여, 청소년기와 성인기의 마우스군에 대해 각각 케타민의 행동학적 효과를 확인하였다.

방 법

사용 약물

시험 물질은 각 군의 케타민 투여 용량(10, 30, 40, or 50 mg/kg/day)에 따라 케타민(50 mg/mL, Huons, Jecheon, Korea)에 적정량의 0.9% 생리 식염수를 첨가하여 전체 총량이 10 mL/kg가 되도록 준비하였다. 대조 물질은 0.9% 생리 식염수(Daihan Pharm. Co., Ltd., Guri, Korea)를 사용하였다.

실험 동물

Specific pathogen free Institute of Cancer Research 수컷 마우스(입수 시, 3주령 및 6주령)는 오리엔트바이오(OrientBio, Seongnam, Korea)에서 구입하여 국립정신건강센터 동물실험실에서 사육되었다(23 ± 2°C, 50 ± 10% 상대습도

및 12-시간 암/명 주기; 20시 점등). 음수와 사료(Altromin 1214, Altromin GmbH., Lage, Germany)는 자유롭게(ad libitum) 먹을 수 있도록 하였다. 동물들은 실험 전 약 2주간의 순화 기간을 거쳤다. 모든 동물실험 절차는 국립정신건강센터 동물실험윤리위원회(NCMH-IACUC)의 승인을 받아 진행되었다(승인번호 : NCMH-1711-003-001-02).

실험 디자인

전체적인 실험 계획은 그림 1에 모식도로 나타내었다. 본 실험은 청소년기(실험 I)와 성인기(실험 II) 정상(naïve) 마우스에서 케타민 투여로 인한 보행 활동 수준 및 운동 기능(locomotor)과 우울 행동 양상(depressive-like behavior)에 대한 영향을 비교하였다. 약물 투여 기간은 각각 사람의 청소년기와 성인기에 해당하는 시기로, 청소년기 마우스에서는 출생 후 35~37일까지, 성인기 마우스에서는 출생 후 60~62일까지 약물을 투여하였다.[24] 각 실험에서, 마우스들은 5가지 마취하 용량의 케타민 투여군(10, 20, 30, 40, and 50 mg/kg)과 생리 식염수 투여군으로 나누었으며, 각 군은 10마리의 수컷 마우스로 구성되었다. 케타민 또는 생리 식염수를 하루에 1회씩 3일 동안 마우스 복강에 주사(intraperitoneal injection)하였다. 투여 용량은 케타민의 전임상 효능 연구에 근거하여 설정하였다.[25] 사람과 마우스 간의 종 간 용량 전환에 대한 체표면적을 이용한 용량 표준화 공식에 따르면,[26] 본 실험에서 설정된 동물 용량(10~50 mg/kg)은 인체 동등 용량으로 환산 시 소아 기준(20 kg)으로 1.2~6.0 mg/kg, 성인 기준(60 kg)으로 0.8~4.1 mg/kg에 해당된다.

행동 검사

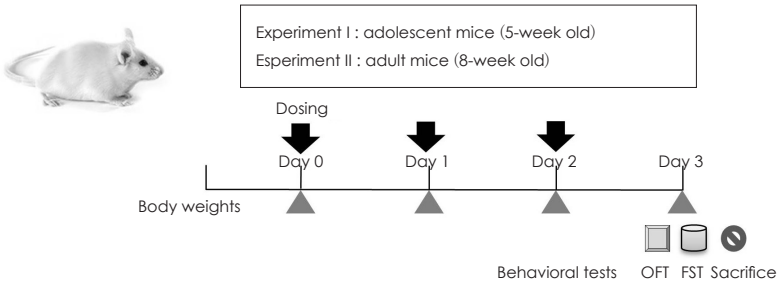
선행 연구의 프로토콜과 케타민 투여 직후 나타날 수 있는 진정 효과를 고려하여,[27] 마지막 투여 1일 후, 개방장 검사와 강제 수영 검사 순으로 행동 검사를 수행하였다. 행동 검사에서의 마우스의 활동은 SMART 3.0® video tracking software (Panlab, Barcelona, Spain)를 이용하여 분석되었다.

개방장 검사

개방장 검사는 동물의 보행 활동 수준 및 운동 기능을 측정하기 위한 검사이다.[28] 실험 장비로 마우스가 움직이기 충분한 사각형 모양의 개방된 상자(45 × 45 × 40 cm)에, 상자 내부를 모두 25개의 정사각형 구획으로 나누고, 이를 중심부(9개의 정사각형)와 주변부(16개의 정사각형)로 구분하였다. 검사 30분 전 동물들을 검사실에 미리 적응시켰다. 마우스를 중심부에 놓고 10초간 자유롭게 이동하도록 하고, 이후 5분 동안의 상자에서의 행동을 중심부 위에 설치된 비디오 카메라를 통해 기록하였다. 각 실험 사이에 75% 알코올로 상자를 소독하였다. 중심부와 주변부에서의 마우스의 활동을 분석하였다.

강제 수영 검사

강제 수영 검사는 설치류가 탈출할 수 없는 수조에서 나타나는 무력(helplessness)의 정도를 검사하는 도구로서 우울의 정도에 대한 계량화를 위한 실험이다.[19] 수온 23~25°C의 물을 실린더 바닥에서부터 10 cm까지 채운 투명한 아크릴 실린더(10 × 25 cm) 안에 마우스를 빠뜨렸다. 실린더에서의 행동



Group	Test-item	Duration (animal age)	Route	Animal no.	Final dose level (mg/kg/day)	Final dose concentration (mg/mL)	Dose volume (mL/kg)
1	Control (vehicle)	3 days (5 w vs. 8 w)	IP	10	0	0	10
2	Ketamine (10 mg/kg)	3 days (5 w vs. 8 w)	IP	10	10	1	10
3	Ketamine (20 mg/kg)	3 days (5 w vs. 8 w)	IP	10	20	2	10
4	Ketamine (30 mg/kg)	3 days (5 w vs. 8 w)	IP	10	30	3	10
5	Ketamine (40 mg/kg)	3 days (5 w vs. 8 w)	IP	10	40	4	10
6	Ketamine (50 mg/kg)	3 days (5 w vs. 8 w)	IP	10	50	5	10

Fig. 1. Study scheme. Timeline and group table illustrate the timing of treatment, the experimental measures obtained, and dosage. OFT : Open field test, FST : Forced swim test, IP : Intraperitoneally, w : Weeks.

은 비디오 카메라로 총 6분을 기록하되, 선행 연구의 프로토콜을 따라 초기 2분은 적응 시간으로 간주하여 측정하지 않았으며, 마지막 4분 동안의 부동 시간만을 측정하였다.[19] 마우스가 발버둥치지 않고 물 위에 떠 있는 행동으로, 수면 밖으로 머리를 내놓는 데 필요한 움직임 이외에는 아무 움직임이 없는 상태를 부동 상태로 판단하였다.

통계 분석

케타민 또는 생리 식염수 투여군 간 비교를 위해 분산분석(analysis of variance)과 사후분석(post-hoc test)으로 Dunnett's t-test를 사용하여 분석하였다. 추가로, 케타민 용량(0~50 mg/kg)과 측정 항목 간의 상관관계를 비모수 상관 계수(Spearman's rho)를 이용하여 분석하였다. 모든 통계 분석 프로그램은 SPSS version 21.0(IBM Corp., Armonk, NY, USA)과 GraphPad PRISM version 7.04(GraphPad Software, La Jolla, CA, USA)를 이용하였다. 통계적인 유의 수준은 $p < 0.05$로 설정하였다.

결 과

실험 I. 청소년기 마우스

개방장 검사

케타민 각 용량군과 생리 식염수 투여군을 비교하였을 때, 주변부에서의 이동 거리($F = 1.24$, $p = 0.302$), 중심부에서의 이동 거리($F = 1.14$, $p = 0.983$), 총 이동 거리($F = 1.20$, $p = 0.324$) 및 그 외 보행 활동 및 운동 기능에서의 유의한 차이는 관찰되지 않았다(표 1). 케타민 용량과 주변부 및 총 이동 거리는 통계적으로 유의한 음의 상관관계를 나타내었다(주변부에서의 이동 거리 : Spearman's rho = −0.33, $p = 0.010$; 총 이동 거리 : Spearman's rho = −0.27, $p = 0.039$)(그림 2A, C). 케타민 용량과 중심부에서의 이동 거리 사이에서는 유의한 상관관계가 관찰되지 않았다(Spearman's rho = −0.12, $p = 0.359$)(그림 2B).

강제 수영 검사

부동 시간에 대한 군 간 비교에서 유의한 차이는 관찰되지 않았다($F = 0.69$, $p = 0.634$)(표 1). 케타민 용량과 부동 시간과의 상관관계에서도 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Spearman's rho = 0.13, $p = 0.322$)(그림 3A). 비록 통계적으로 유의하지는 않았지만, 생리 식염수 투여군과 비교 시 모든 케타민 투여 용량군에서 부동 시간이 연장된 경향이 나타났다(표 1).

Table 1. Behavioral analyses of adolescent and adult Institute of Cancer Research mice treated with ketamine (10, 20, 30, 40, and 50 mg/kg/day) and vehicle (normal saline) in open field test and forced swim test

	Vehicle	Ketamine (mg/kg)				
		10	20	30	40	50
Experiment I. adolescent mice						
Open field test						
Distance traveled in the peripheral area (cm)	2572.8 ± 112.82	2506.3 ± 142.25	2351.5 ± 105.04	2231.5 ± 141.29	2382.1 ± 125.35	2217.5 ± 138.23
Distance traveled in the central area (cm)	542.2 ± 52.65	536.7 ± 45.43	503.0 ± 55.59	484.2 ± 52.86	521.1 ± 58.29	509.2 ± 81.30
Total distance traveled (cm)	3115.0 ± 107.03	3043.0 ± 125.70	2854.6 ± 121.77	2715.7 ± 175.89	2903.3 ± 126.87	2726.7 ± 209.38
Forced swim test						
Immobility time (s)	118.3 ± 18.63	151.8 ± 19.89	151.9 ± 21.31	139.2 ± 14.46	153.1 ± 12.50	156.4 ± 15.61
Experiment II. adult mice						
Open field test						
Distance traveled in the peripheral area (cm)	2186.3 ± 162.24	2373.1 ± 107.93	2354.9 ± 68.24	2656.0 ± 132.78	2431.6 ± 189.68	2584.6 ± 168.08
Distance traveled in the central area (cm)	546.9 ± 54.49	498.9 ± 53.91	583.8 ± 71.84	636.3 ± 51.80	483.4 ± 47.82	490.5 ± 42.88
Total distance traveled (cm)	2733.2 ± 170.67	2871.9 ± 131.12	2938.7 ± 131.41	3292.3 ± 152.33	2915.0 ± 221.60	3075.0 ± 187.37
Forced swim test						
Immobility time (s)*	152.6 ± 17.32	156.2 ± 10.77	169.7 ± 9.42	163.7 ± 10.30	174.8 ± 17.23	208.0 ± 4.61†

Data are shown as mean ± standard error of the mean. * : Significantly different among groups ($p < 0.05$ in analysis of variance), † : Ketamine (50 mg/kg) vs. vehicle ($p < 0.05$ in Dunnett's post-hoc test)

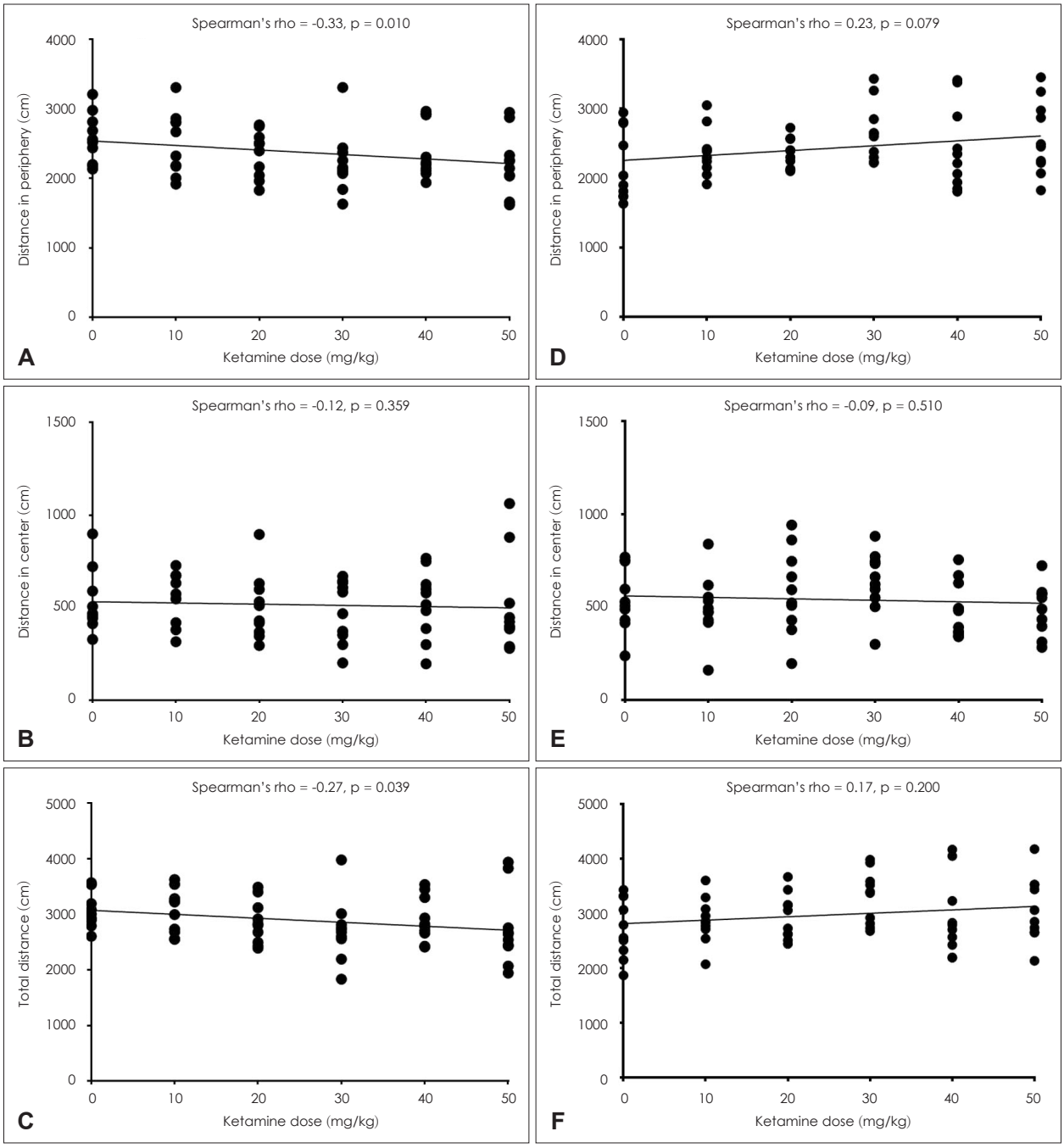


Fig. 2. Dose responses in locomotor parameters among groups of adolescent mice (A–C) and adult mice (D–F) treated with ketamine (10, 20, 30, 40, and 50 mg/kg) and vehicle (normal saline) in open field test. Significant negative correlations between ketamine dosage and the distance traveled at the peripheral area (A, Spearman's rho = -0.33, p = 0.010) and total distance traveled (C, Spearman's rho = -0.27, p = 0.039) in open field test of adolescent mice were found.

실험 II. 성인기 마우스

개방장 검사

케타민 각 용량군과 생리 식염수 투여군을 비교하였을 때, 주변부에서의 이동 거리(F = 1.38, p = 0.246), 중심부에서의 이동 거리(F = 1.25, p = 0.299), 총 이동 거리(F = 1.30, p = 0.280)에 대해 유의한 차이는 관찰되지 않았다(표 1). 그리고, 케타민 용량과 주변부, 중심부 및 총 이동 거리 사이에서도 유의한 상관관계가 관찰되지 않았다(주변부에서의 이동 거리 : Spearman's rho = 0.23, p = 0.079 ; 중심부에서의 이동 거리 : Spearman's rho = −0.09, p = 0.510 ; 총 이동 거리 : Spearman's rho = 0.17, p = 0.200)(그림 2D~F).

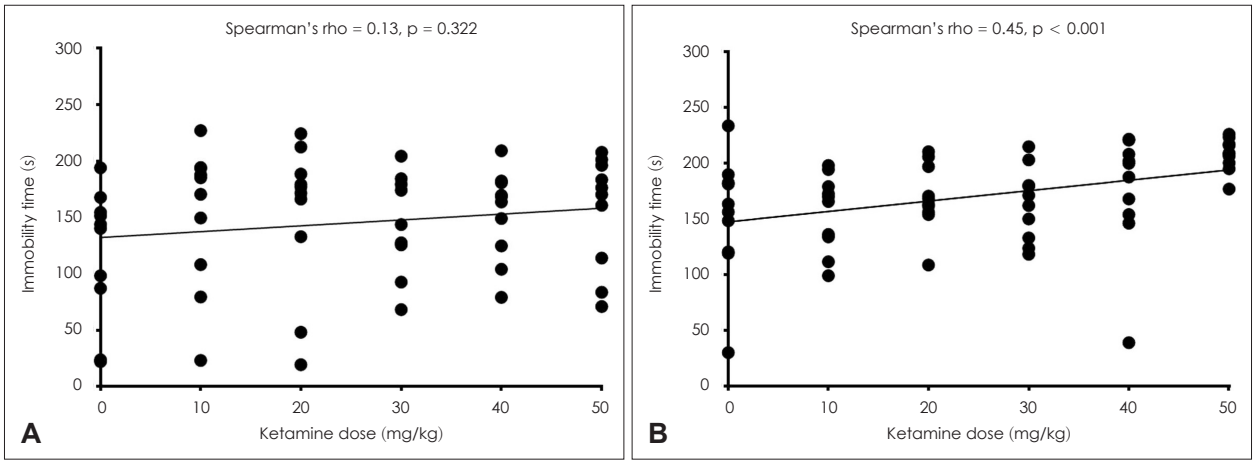


Fig. 3. Dose responses in immobility time among groups of adolescent mice (A) and adult mice (B) treated with ketamine (10, 20, 30, 40, and 50 mg/kg) and vehicle (normal saline) in forced swim test. Significant positive correlation between ketamine dosage and immobility time in forced swim test of adult mice was found (B, Spearman's rho = 0.45, p < 0.001).

강제 수영 검사

부동 시간에 대한 군 간 비교에서 유의한 차이가 관찰되었다(F = 2.58, p = 0.037). 사후 분석(Dunnett's t-test)에서, 50 mg/kg 용량의 케타민 투여군의 부동 시간이 생리 식염수 투여군과 비교하여 유의하게 증가됨을 확인되었다(p = 0.012)(표 1). 케타민 용량과 부동 시간과의 상관관계에서도 통계적으로 유의한 양의 상관관계가 확인되었다(Spearman's rho = 0.45, p < 0.001)(그림 3B).

고 찰

본 연구는 청소년기와 성인기에 해당하는 정상 마우스에 대해 3일 동안 매일 케타민 0~50 mg/kg을 투여하고, 마지막 투여 24시간 이후 개방장 검사와 강제 수영 검사를 이용하여 그 행동 변화를 관찰하였다. 청소년기 마우스에 대한 개방장 검사에서 주변부 활동 거리와 총 이동 거리가 케타민의 투여 용량에 따라 감소하는 음의 상관관계를 나타냈다. 또한 성인기 마우스에 대한 실험에서, 강제 수영 검사의 부동 시간과 케타민의 투여 용량 사이에 양의 상관관계가 있으며, 케타민 50 mg/kg을 투여받은 마우스는 생리 식염수를 투여받은 마우스에 비해 부동 시간이 통계적으로 유의하게 증가하였음을 확인하였다.

동물 모델에서 케타민 투여 후 행동학적 또는 생물학적 변화를 탐색하기 위하여 기존 연구들에서는 케타민을 1회 투여 또는 1~3주에 걸쳐 반복 투여 후 그 효과를 평가하였다.[20)21)27)] 본 연구에서는 확실한 약물 효과를 관찰하고자 1회 투여보다는 반복 투여를 선택하였으며, 청소년기 마우스 실험과 관련하여 성장 주기를 고려해서 케타민을 3일간 투여하고 24시간 후 행동의 변화를 평가하였다. 그리고 실험 동물의 마취를 위해 사용되는 케타민의 용량은 약 100 mg/kg으로, 그 이하의 다양한 마취하 용량에서 케타민의 효과가 연구된 바 있다. 본 연구는 10, 20, 30, 40, 50 mg/kg의 다양한 용량에서 케타민의 효과를 평가하였으며, 이는 body surface area(BSA)를 이용하여 인체 동등 용량으로 환산 시,[26)] 성인 기준 각각 0.8, 1.6, 2.4, 3.2, 4.1 mg/kg, 그리고 소아 기준으로는 1.2, 2.4, 3.6, 4.8, 6.0 mg/kg에 해당하는 용량이다. 이는 케타민의 진통 또는 항우울 효과를 평가한 인간 대상 연구들에서 사용된 케타민 용량 범위(0.5~2 mg/kg)를 포함한다.[8)29)]

5~20 mg/kg의 케타민을 실험 동물에 투여하여 항우울 효과를 확인한 연구들과 30~50 mg/kg의 케타민을 사용한 조현병 동물 모델 연구를 고려했을 때, 실험 동물에 대해 저용량의 케타민의 투여는 그 활동량을 늘리거나 부동 시간을 감소시킬 수 있으며,[20)21)] 상대적으로 고용량의 케타민은 반대로 활동량을 줄이거나 부동 시간을 연장시키는 효과를 나타낼 것으로 예상해 볼 수 있다.[22)] 본 연구에서 저용량의 케타민을 실험 동물에 투여하였을 때, 개방장 검사에서 활동량이나 강제 수영 검사에서의 부동 시간의 변화는 관찰되지 않았다. 반면, 케타민의 투여 용량이 증가할수록 청소년기 마우스에서는 활동량이 감소하였으며, 성인기 마우스에서는 부동 시간이 증가하는 양상을 나타내었다. 특히, 케타민 50 mg/kg를 투여한 성인기 마우스의 경우 생리 식염수를 투여한 마우스에 비해 유의하게 부동 시간이 증가하였다. 즉, 본 연구는 마취하 용량 범위에서 케타민의 항우울 효과를 확인하지 못하였으며, 상대적으로 고용량의 케타민으로 활동량의 저하와 정서적 둔마(emotional blunting) 등 조현병의 음성 증상과 관련된 행동을 유발함을 확인하였다.

개방장 검사는 실험 동물의 일반적인 활동 수준을 평가하는 방법으로, 중심 영역에 머무른 시간과 보행 활동의 정도는

마우스나 랫드의 불안 정도를 반영한다.[28] 본 연구에서 청소년기 마우스가 케타민의 투여 용량에 따라 주변부 활동 거리와 총 이동 거리가 감소하였으나, 중심부 활동 거리는 유의한 상관관계를 나타내지 않았다는 점은 케타민의 용량 증가가 불안 증상의 감소보다는 활동량의 감소와 관련되어 있음으로 해석될 수 있다. 그리고, 강제 수영 검사는 항우울 효과를 평가하는 데 널리 사용되는 행동 실험으로, 실험 동물의 무력(helplessness)의 정도를 움직임이 없는 부동 시간으로 평가한다.[19] 강제 수영 검사에서 실험 동물은 수조 밖으로 나가려 시도하다가 포기하게 되고, 결국 부동 자세를 취하는 일종의 행동 좌절(behavioral despair) 양상을 나타낸다. 강제 수영 검사에서 부동 시간의 증가는 동물 모델의 정서적 둔마 또는 무관심(apathy)을 반영하는 것으로 해석된다.[30] 특히, PCP를 투여한 실험 동물에서 부동 시간의 증가가 나타남은 여러 연구들에서 일관되게 확인되었다.[30-32] 이는 NMDA 수용체의 길항작용이 실험 동물의 부동 시간 증가와 관련되어 있음을 시사하며, 조현병의 음성 증상 모델로 제안되기도 하였다.[33] 그러나, PCP와 달리 강제 수영 검사에 대한 케타민의 효과에 대해서는 상반된 연구 결과가 존재한다. Chindo 등[22]은 랫드에 30~50 mg/kg의 케타민을 반복 투여하였을 때 강제 수영 검사의 부동 시간이 증가하였음을 보고하였다. 보다 고용량인 100 mg/kg의 케타민을 사용한 연구들에서도 강제 수영 검사에서 유사한 결과를 나타낸 바 있다.[34][35] 반면, 상대적으로 저용량의 케타민을 투여한 일부 연구들은 부동 시간의 감소와 항우울 효과를 확인하였다.[36][37] 이와 같은 결과들로 인해 조현병의 음성 증상 모델로서 강제 수영 검사의 부동 시간 증가에 대해서 논란이 제기된 바 있다.[38] 본 연구는 반복 투여한 케타민의 용량 증가에 따라 부동 시간의 증가하는 경향을 확인하였으며, 이는 Chindo 등[22]의 결과를 지지한다고 볼 수 있다.

본 연구에서 케타민에 의해 유발된 청소년기와 성인기 마우스의 행동 변화는 실험 종류에 따라 차이가 있었다. 우선, 개방장 검사에서 청소년기 마우스는 케타민의 용량이 증가함에 따라 활동량이 감소하는 양상이 관찰되었으나, 성인기 마우스에서는 그 상관관계가 유의하지 않았다. 반대로, 강제 수영 검사에서는 성인기 마우스와 달리 청소년기 마우스에서는 케타민 용량과 부동 시간 간의 유의한 상관관계가 관찰되지 않았다. 그러나, 생리 식염수를 투여한 청소년기 마우스와 비교했을 때, 모든 용량의 케타민 투여 마우스군의 부동 시간은 통계적으로는 유의하지 않았지만 보다 길었다. 일부 선행 연구들을 통해 케타민에 의해 유발되는 행동학적 변화가 성인기에 비해 청소년기에 더욱 민감하게 나타난다는 사실이 알려진 바 있다.[23] 이에, 청소년기 마우스가 케타민 저용량에서부터 민감한 변화를 나타내어, 그 천장 효과(ceiling effect)로 인해 케타민 용량과 부동 시간 사이에 상관관계가 확인되지 않았을 수도 있다. 청소년기 케타민에 의한 행동 변화를 관찰한 동물 연구가 많지 않아, 본 연구 결과를 재현하기 위한 추가적인 연구가 필요하다.

본 연구는 다음과 같은 한계점을 갖는다. 첫째, 본 연구는 정상 발달 마우스만을 대상으로 케타민에 의한 행동 변화를 조사하였다. 케타민 투여 시 인간에서 나타나는 항우울 또는 정신 증상을 유발한다는 사실을 고려하면, 우울증 또는 정신증 동물 모델에서의 케타민 효과도 함께 확인할 필요가 있다. 둘째, 본 연구에서는 케타민을 3일 연속 반복 투여 후 그 반응을 평가하였으며, 보다 급성 또는 만성 투여에 따른 케타민 효과는 확인할 수 없었다. 또한 본 연구에서 케타민의 최저 투여 용량은 10 mg/kg으로 BSA에 의하면 인간에서 0.8~1.2 mg/kg의 투여 용량에 해당하며, 임상에서 우울증 환자에 대해 0.5~0.75 mg/kg의 용량이 사용된다는 점을 고려하면,[8] 더 낮은 케타민 용량에서 항우울 효과가 나타날 가능성이 있다. 이는 다양한 케타민 투여 방법을 이용한 추가적인 연구를 통해 확인해 볼 필요가 있다. 셋째, 본 연구에서 케타민 투여에 따른 생물학적 변화에 대한 분석은 수행되지 않았다. 향후 케타민 투여에 따른 활동량이나 부동 시간의 변화를 설명하는 생물학적인 기전에 대한 연구가 이루어질 필요가 있다.

본 연구는 다양한 마취하 용량의 케타민을 마우스에 반복 투여 후 그에 따른 활동량과 부동 시간의 변화를 관찰하였다. 실험 결과 케타민의 항우울 효과를 시사하는 마우스의 행동 변화는 관찰되지 않았으며, 용량이 증가할수록 마우스의 활동량이 감소하거나 부동 시간이 증가하는 양상을 확인하였다. 이는 조현병의 음성 증상에 관한 케타민 동물 모델을 지지하는 결과로 해석될 수 있다. 또한, 본 연구 결과는 항우울제로서 상대적으로 고용량의 케타민을 반복적으로 투여했을 경우 도리어 환자의 우울 증상이나 정신병적 증상이 악화될 수 있는 가능성을 시사한다. 마지막으로, 마취하 케타민 투여에 따른 행동학적 효과를 탐색하기 위해 다양한 케타민 투여 방법이나 중독 등 다른 질환 모델을 이용한 추가 연구가 수행될 필요가 있음을 제안한다.

중심 단어: 케타민·마우스·개방장 검사·강제 수영 검사.

Acknowledgments

본 연구는 2018년도 국립정신건강센터 정신건강연구소과제(R2018-C)의 지원을 받아 수행된 연구임.

Conflicts of interest

The authors have no financial conflicts of interest.

Author Contributions

Conceptualization: Hyung Jun Choi, Chul-Eung Kim, Seunghyong Ryu. Data curation: Hyung Jun Choi. Formal analysis: Hyung Jun Choi, Soo Jung Im. Funding acquisition: Chul-Eung Kim, Seunghyong Ryu. Methodology: Hyung Jun Choi, Soo Jung Im, Hae Ri Park, Seong Mi Lee. Project administration: Hyung Jun Choi. Supervision: Chul-Eung Kim, Seunghyong Ryu. Writing—original draft: Hyung Jun Choi, Seunghyong Ryu. Writing—review & editing: Chul-Eung Kim, Seunghyong Ryu.

ORCID iDs

Hyung Jun Choi	https://orcid.org/0000-0003-1877-3573
Soo Jung Im	https://orcid.org/0000-0002-3030-035X
Hae Ri Park	https://orcid.org/0000-0002-9814-7582
Seong Mi Lee	https://orcid.org/0000-0002-8780-177X
Chul-Eung Kim	https://orcid.org/0000-0002-5995-4955
Seunghyong Ryu	https://orcid.org/0000-0001-6127-760X

REFERENCES

1) **Schmid RL, Sandler AN, Katz J.** Use and efficacy of low-dose ketamine in the management of acute postoperative pain: a review of current techniques and outcomes. Pain 1999;82:111-125.
2) **Petrenko AB, Yamakura T, Baba H, Shimoji K.** The role of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors in pain: a review. Anesth Analg 2003;97:1108-1116.
3) **Hirota K, Lambert DG.** Ketamine: its mechanism(s) of action and unusual clinical uses. Br J Anaesth 1996;77:441-444.
4) **Berman RM, Cappiello A, Anand A, Oren DA, Heninger GR, Charney DS, et al.** Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. Biol Psychiatry 2000;47:351-354.
5) **Murrough JW, Iosifescu DV, Chang LC, Al Jurdi RK, Green CE, Perez AM, et al.** Antidepressant efficacy of ketamine in treatment-resistant major depression: a two-site randomized controlled trial. Am J Psychiatry 2013;170:1134-1142.
6) **Phillips JL, Norris S, Talbot J, Birmingham M, Hatchard T, Ortiz A, et al.** Single, repeated, and maintenance ketamine infusions for treatment-resistant depression: a randomized controlled trial. Am J Psychiatry 2019;176:401-409.
7) **Zarate CA Jr, Singh JB, Carlson PJ, Brutsche NE, Ameli R, Luckenbaugh DA, et al.** A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. Arch Gen Psychiatry 2006;63:856-864.
8) **Kim Y, Shin C.** Rapid-acting antidepressant effect of ketamine and its clinical application. J Korean Neuropsychiatr Assoc 2018;57:108-118.
9) **Scheuing L, Chiu CT, Liao HM, Chuang DM.** Antidepressant mechanism of ketamine: perspective from preclinical studies. Front Neurosci 2015;9:249.
10) **Krystal JH, Karper LP, Seibyl JP, Freeman GK, Delaney R, Bremner JD, et al.** Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. Arch Gen Psychiatry 1994;51:199-214.
11) **Lahti AC, Weiler MA, Tamara Michaelidis BA, Parwani A, Tamminga CA.** Effects of ketamine in normal and schizophrenic volunteers. Neuropsychopharmacology 2001;25:455-467.
12) **Cheon JS.** Experimental models of schizophrenia. Korean J Biol Psychiatry 1999;6:153-160.
13) **Woo Y, Lee S, Jeong J, Park SK.** Use of behavioral analysis in animal models for schizophrenia research. Korean J Schizophr Res 2014;17:12-26.
14) **Moghaddam B, Adams B, Verma A, Daly D.** Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. J Neurosci 1997;17:2921-2927.
15) **Homayoun H, Moghaddam B.** NMDA receptor hypofunction produces opposite effects on prefrontal cortex interneurons and pyramidal neurons. J Neurosci 2007;27:11496-11500.
16) **Chowdhury GM, Zhang J, Thomas M, Banasr M, Ma X, Pittman B, et al.** Transiently increased glutamate cycling in rat PFC is associated with rapid onset of antidepressant-like effects. Mol Psychiatry 2017;22:120-126.
17) **Kim K, Park K, Jang H, Lee Y, Park S.** Attunement disorder: a disorder of brain connectivity. Korean J Biol Psychiatry 2013;20:136-143.
18) **Cohen SM, Tsien RW, Goff DC, Halassa MM.** The impact of NMDA receptor hypofunction on GABAergic neurons in the pathophysiology of schizophrenia. Schizophr Res 2015;167:98-107.
19) **Yankelevitch-Yahav R, Franko M, Huly A, Doron R.** The forced swim test as a model of depressive-like behavior. J Vis Exp 2015:52587.
20) **da Silva FC, do Carmo de Oliveira Cito M, da Silva MI, Moura BA, de Aquino Neto MR, Feitosa ML, et al.** Behavioral alterations and pro-oxidant effect of a single ketamine administration to mice. Brain Res Bull 2010;83:9-15.
21) **Garcia LS, Comim CM, Valvassori SS, Réus GZ, Barbosa LM, Andreazza AC, et al.** Acute administration of ketamine induces antidepressant-like effects in the forced swimming test and increases BDNF levels in the rat hippocampus. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2008;32:140-144.
22) **Chindo BA, Adzu B, Yahaya TA, Gamaniel KS.** Ketamine-enhanced immobility in forced swim test: a possible animal model for the negative symptoms of schizophrenia. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2012;38:310-316.
23) **Rocha A, Hart N, Trujillo KA.** Differences between adolescents and adults in the acute effects of PCP and ketamine and in sensitization following intermittent administration. Pharmacol Biochem Behav 2017;157:24-34.
24) **Semple BD, Blomgren K, Gimlin K, Ferriero DM, Noble-Haeusslein LJ.** Brain development in rodents and humans: identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. Prog Neurobiol 2013;106-107:1-16.
25) **Browne CA, Lucki I.** Antidepressant effects of ketamine: mechanisms underlying fast-acting novel antidepressants. Front Pharmacol 2013;4:161.
26) **Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N.** Dose translation from animal to human studies revisited. FASEB J 2008;22:659-661.
27) **Thelen C, Sens J, Mauch J, Pandit R, Pitychoutis PM.** Repeated ketamine treatment induces sex-specific behavioral and neurochemical effects in mice. Behav Brain Res 2016;312:305-312.
28) **Sestakova N, Puzserova A, Kluknavsky M, Bernatova I.** Determination of motor activity and anxiety-related behaviour in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide. Interdiscip Toxicol 2013;6:126-135.
29) **Park JW, Kim DW, Shin KM, Noh JS.** Dissociated antidepressant and analgesic effects of intravenous ketamine in patients with chronic pain. Korean J Psychopharmacol 2014;25:192-199.
30) **Noda Y, Yamada K, Furukawa H, Nabeshima T.** Enhancement of immobility in a forced swimming test by subacute or repeated treatment with phencyclidine: a new model of schizophrenia. Br J Pharmacol 1995;116:2531-2537.
31) **Tejedor-Real P, Sahagún M, Biguet NF, Mallet J.** Neonatal handling prevents the effects of phencyclidine in an animal model of negative symptoms of schizophrenia. Biol Psychiatry 2007;61:865-872.
32) **Turgeon SM, Lin T, Subramanian M.** Subchronic phencyclidine

exposure potentiates the behavioral and c-Fos response to stressful stimuli in rats. Pharmacol Biochem Behav 2007;88:73-81.
33) **Neill JC, Harte MK, Haddad PM, Lydall ES, Dwyer DM.** Acute and chronic effects of NMDA receptor antagonists in rodents, relevance to negative symptoms of schizophrenia: a translational link to humans. Eur Neuropsychopharmacol 2014;24:822-835.
34) **Chatterjee M, Ganguly S, Srivastava M, Palit G.** Effect of 'chronic' versus 'acute' ketamine administration and its 'withdrawal' effect on behavioural alterations in mice: implications for experimental psychosis. Behav Brain Res 2011;216:247-254.
35) **Hou Y, Zhang H, Xie G, Cao X, Zhao Y, Liu Y, et al.** Neuronal injury, but not microglia activation, is associated with ketamine-induced experimental schizophrenic model in mice. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2013;45:107-116.
36) **Ma XC, Dang YH, Jia M, Ma R, Wang F, Wu J, et al.** Long-lasting antidepressant action of ketamine, but not glycogen synthase kinase-3 inhibitor SB216763, in the chronic mild stress model of mice. PLoS One 2013;8:e56053.
37) **Tizabi Y, Bhatti BH, Manaye KF, Das JR, Akinfiresoye L.** Antidepressant-like effects of low ketamine dose is associated with increased hippocampal AMPA/NMDA receptor density ratio in female Wistar-Kyoto rats. Neuroscience 2012;213:72-80.
38) **Neves G, Borsoi M, Antonio CB, Pranke MA, Betti AH, Rates SMK.** Is forced swimming immobility a good endpoint for modeling negative symptoms of schizophrenia? - Study of sub-anesthetic ketamine repeated administration effects. An Acad Bras Cienc 2017; 89:1655-1669.