

# 개구리皮膚의 膜電位 및 短絡電流에 미치는 Morphine의 영향

전북대학교 의과대학 약리학교실

채 수 완 · 조 규 박

=Abstract=

## Effects of Morphine on the Transmembrane Potential and the Short Circuit Current of Frog Skin

Soo Wan Chae and Kyu Park Cho

*Department of Pharmacology, Jeonbuk Natl. University  
Medical School*

The effects of morphine on the transmembrane potential and the short circuit current in the isolated frog skin were studied under different experimental conditions. The measurements of the transmembrane potential and the short circuit current were carried out according to Ussing and Zerahn's method. Experimental results were summarized as follows:

1)  $5 \times 10^{-8}$  M of morphine markedly depressed the transmembrane potential and the short circuit current of the naive preparation. The peak of these inhibitory effects of morphine was observed about 1 hour after administration of the drug.

2) However  $10^{-4}$  M of naloxone did not affect these effects of morphine.

3) Decrease of  $K^+$ , increase of  $K^+$  or  $Ca^{2+}$  in the perfusate, markedly potentiated the inhibitory action of morphine on both transmembrane potential and short circuit current of the frog skin, and addition of  $Mn^{2+}$  to the solution depressed the effect of morphine on the transmembrane potential, while the inhibitory effect of morphine on the short circuit current was diminished in the  $Ca^{2+}$ -free ringer solution, and increase of  $Mg^{2+}$  concentration depressed those effect of morphine on both electrical parameters.

4) In the morphine treated preparations, transmembrane potential and short circuit current were decreased in the early phase of drug treatment (1~2 days), but gradually increased to the significantly high level from the control (4~8 days after treatment). In these preparations, the effects of morphine on both electrical parameters were also potentiated in the early phase, but markedly diminished in the late phase of treatment.

From the above results, it is postulated that the pharmacological actions of morphine as well as development of the tolerance by morphine may be partially related to the changes of ion fluxes and/or permeabilities of skin by the drug.

서 론

1957년 Paton<sup>1)</sup>은 처음으로 적출해명회장편에서 전

기적으로 유발시킨 근수축을 morphine이 억제하며, 이때 비교적 저농도의 morphine에 표본을 접촉시키면 morphine의 장수축억제효과가 감소되나, 세척후 고농도의 morphine으로 morphine처리전의 반응을 일

있을 수 있음을 관찰하여 전자의 현상을 “acute tolerance”에, 그리고 후자의 현상을 “drug dependence”에, 의한 것이라 추정하였다. 그후 대부분의 opiates 약리작용에 관한 연구는 이들 약물의 내성 및 의존을 포함하여 생체내 신경전도물질의 함량, 유리 및 교체율 등에 대한 작용이 추궁되어 왔고<sup>2~6)</sup>, 근년에 이르러 신경조직내에 한정하여 opiate 약리작용을 일으키는 functional opiate 수용체의 존재가 확인됨에 따라 시험관내 이들 수용체를 통한 신경기능변동과 전신동물에서 얻어진 실험성적과의 상관관계를 추궁하게 되었다<sup>7~10)</sup>. 한편 1971년 Goldstein 등<sup>11)</sup>이 처음으로 흰쥐의 뇌절편에서 동위원소로 표지한 levorphanol과 opiate 수용체와의 결합이 약리적으로 불활성인 dextrorphan에 의하여 경쟁적으로 억제됨을 관찰하여 stereospecific binding의 개념을 소개하므로써 opiate 수용체 성상 규명에 많은 공헌을 하였고, 그후 많은 학자들에 의하여 이 saturable binding이 functional opiate 수용체와 약물결합 그 자체임이 확인되었다<sup>12~15)</sup>. 그런데 이 saturable binding은 세포막의 상태를 변형시키거나 incubation medium내 전해질 조성을 변동시키면 달라짐도 알려졌다<sup>16~18)</sup>.

그러나 이와는 달리 최근 Guerrero-Munoz 등<sup>19)</sup>, Harris 등<sup>20)</sup> 및 Yamamoto 등<sup>21)</sup>은 opiates 약리작용에 관하여 opiates가 세포막의 ion flux 또는 ions 함량등의 세포막의 일반성질을 변동시켜 그 약리작용을 일으킬 수 있음을 보고하였고 본교실의 鄭동<sup>22)</sup>과 權동<sup>23)</sup>도 해명회장에서 영양액내 또는 incubation medium내 전해질 조성을 변동시키므로써 morphine의 장수축억제 효과가 달라지며 이는 opiate 수용체의 수나 친화력 변동에 의하지 않음을 보고한 바 있다.

한편 개구리 피부는 아주 희석된 용액에서도 NaCl을 흡수할 수 있으며, 피부 안쪽에 전위차를 갖고 있고, 이 전위차의 유지에는 Na<sup>+</sup>이 필요하다는 것이 오래전부터 잘 알려져 있다<sup>24~26)</sup>. 또한 Koefoed-Johnson과 Ussing<sup>27,28)</sup>에 의하면 개구리 피부에서 능동수송을 하는 세포는 發芽層(stratum germinativum)에 있는 세포로써 그 세포의 외막은 Na<sup>+</sup>, Li<sup>+</sup> 및 Cl<sup>-</sup>을 피동적으로 그리고 선택적으로 투과시키나 K<sup>+</sup>와 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>는 투과시키지 않으며, 내막은 K<sup>+</sup>은 통과시키나 Na<sup>+</sup>는 투과시키지 않고, Na<sup>+</sup>-pump가 존재하여 세포내의 저농도의 Na<sup>+</sup>와 고농도의 K<sup>+</sup>을 유지한다 하였다. 이 실험에 따르면 개구리 피부내의 막전위는 주로 외막에서의 Na<sup>+</sup> diffusion potential과 내막내에서의 Na<sup>+</sup>-pump에 의하여 좌우되는 K<sup>+</sup> diffusion potential에

의하여 이루어지게 되며, short circuit current는 주로 내막의 Na<sup>+</sup>-pump의 활동과 외막의 투과성에 의하여 결정지워지는 net Na<sup>+</sup> transport와 일치하게 된다 하였다<sup>26~31)</sup>. 이들은 이에 근거하여 개구리 피부에서 막전위와 단락전류를 측정하므로써 Na<sup>+</sup>의 net transport의 척도로써 사용할 수 있음을 밝혔으며, 따라서 본 방법이 ion 수송에 미치는 약물의 영향을 연구하는데 좋은 model로써 널리 이용되고 있다.

따라서 저자는 본 실험에서 morphine의 약리작용이 opiate 수용체를 통한 작용외에도 여러 전해질에 의하여 영향을 받고 또한 morphine이 세포막의 ion flux 및 세포내 ion 함량에 영향을 미칠 수 있음을 감안하여 정상 및 morphine 장기처리 개구리에서 그 피부부를 사용하여 morphine에 의한 막전위와 단락전류 변동을 검토하므로써 세포막에서의 막전위와 ions의 투과성에 미치는 morphine의 영향에 관한 지견을 얻고자 본 실험을 시도하였다.

## 실 험 방 법

본 실험에는 5~8월 사이에 전주 근교에서 포획한 35 gm 내외의 개구리(Rana nigromaculata)를 자웅 구별 없이 사용하였다. 개구리는 포획후 수일간 일정 조건하의 경수조에 절식하여 보관하였다가 실험시 단두하여 척수를 파괴하고 복부피부를 조심스럽게 박리 절개하여 영양액으로 수회 세척하였다. morphine 장기처리피부표본은 체중 10 gm 당 morphine 4 mg을 1일 2회 복부 임파낭에 1, 2, 4 및 8일간 처리하여 사용하였다.

막전위와 단락전류 측정은 Ussing 등의 방법<sup>31)</sup>에 준하였다. 즉 표본을 두개의 반구 chamber(용적 5 ml) 사이에 고정하고, 양측 chamber 내를 각각 동일 조성의 산소포화 영양액으로 계속 관류토록 하였다.

막전위는 양 chamber에 각각 연결된 agar-KCl bridge와 calomel-Hg 전극을 통하여 전압계(Narco physiograph MK-IV)로 측정하였으며, 단락전류는 또한 쌍의 agar-KCl bride와 calomel-Hg 전극을 통하여 피부의 외부에 직렬로 기전력을 가하여 피부가 갖고 있는 전위차를 제거하므로써 ion 수송에 의해서만 발생하는 전류를 Tektronix DMM으로 측정하였다.

약물투여는 표본을 고정한 후 약 1시간후 막전위와 단락전류가 일정하게 된 다음 피부내면이 접한 chamber 내를 약물을 가한 영양액으로 교체하였다.

사용한 영양액의 조성은 NaCl 112 mM, KCl 2 mM,

CaCl<sub>2</sub> 1mM, NaHCO<sub>3</sub> 2.4 mM 및 glucose 11 mM 이었고 필요에 따라 전해질 농도를 변동시켰으며, 전해질 농도 변동에 따른 osmolarity 변동은 choline chloride 로 교정하였다.

사용한 약물은 morphine HCl(삼성제약)과 naloxone HCl(Sigma)이었고, 영양액 제조에는 분석용 시약을 사용하였다.

## 실험 성적

### 1) 막전위와 단락전류에 미치는 morphine 의 효과

먼저 대조실험으로 표본을 장치한 후 약 1시간 동안 방치하여 막전위와 단락전류가 일정하게 된 다음 표본 내측면이 접한 chamber 내의 영양액을 morphine 을 가한 영양액으로 교체하였다. 표본에 따라 다소의 개체의 차이는 있었으나 morphine 5×10<sup>-4</sup>M 이하의 농도에서는 morphine 에 의한 막전위와 단락전류의 변동을 거의 볼 수 없었으나 Morphine 5×10<sup>-3</sup>M 은 막전위와 같이 단락전류를 현저히 저하시켰다. Fig. 1은 5×10<sup>-3</sup>M 의 효과를 본 이러한 실험 6예중 1예를 제시한 것이다. 즉 morphine 투여전 막전위는 43 mV 그리고 단락전류는 59 μA/cm<sup>2</sup>였으며, 약물투여후 5분에 일시적인 막전위 상승에 이어 단락전류와 같이 감소하여 40~60분에 최저치에 달하였고 morphine 투여후 120분까지 관찰하였으나 더 이상의 감소는 볼 수 없었다. 또한 이와 같은 morphine 의 작용은 세척후 반복투여로써 같은 정도의 효과를 나타내었다(Fig. 1).

Fig. 2는 6예의 표본에서 Fig. 1에서와 동일한 실험으로 얻어진 성적을 종합한 것이다. 즉 막전위는 대조치 42±6.3 mV에서 morphine 투여후 5분에 44±6.3 mV 로 일시적인 상승을 보인후 점차 감소하여 60분에 22±5.8 mV 도 최저에 달하였고(p<0.05), 단락전류는 대조치 59±6.4 μA/cm<sup>2</sup>에서 시간 경과에 따라 점차 감소하여 60분에 31±3.9 μA/cm<sup>2</sup>로 최저치에 달하였다(p<0.05).

### 2) Morphine 작용에 미치는 naloxone 의 영향

Naloxone 10<sup>-4</sup>M 자체로서는 영향이 없었다. Naloxone 은 opiates 에 대한 specific antagonist 로 잘 알려져 있다. 따라서 본 실험에서는 상술한 morphine 작용이 opiate 수용체를 통한 작용인지의 여부를 알고자 6예에서 대조실험에 이어 naloxone 10<sup>-4</sup>M 처리 1시간 후에 morphine 작용을 관찰하여 보았다. Naloxone 은 morphine 의 막전위 및 단락전류 억제효과에 아무런

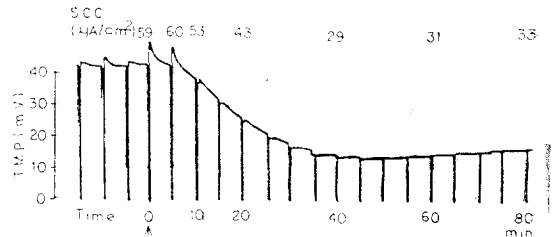


Fig. 1. An experiment showing the effect of morphine on transmembrane potential and short circuit current of the frog skin. At arrow mark, 5×10<sup>-3</sup>M of morphine was added to the inner side of the skin.

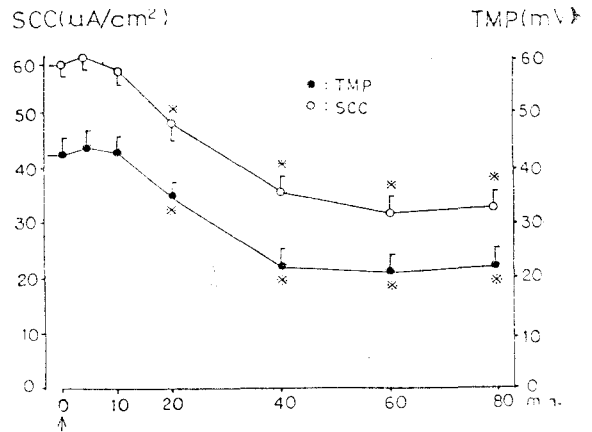


Fig. 2. Effect of morphine on transmembrane potential (TMP) and short circuit current (SCC). At arrow mark, 5×10<sup>-3</sup>M of morphine was added to the inner side of the skin. Mean of 6 experiments with S.E. are plotted against the time in minutes. \*; Statistically significant from control value(p<0.05).

영향을 미치지 못하였다(Fig. 3).

### 3) Morphine 작용에 미치는 여러 전해질의 영향

개구리 피부에서 막전위 유지와 단락전류 발생에는 주로 Na<sup>+</sup> diffusion potential, Na<sup>+</sup>-pump 에 좌우되는 K<sup>+</sup> diffusion potential 및 net Na<sup>+</sup> transport 가 중요함이 잘 알려져 있으나<sup>27-29,31-33</sup>, 여러 전해질이 drug-opiate receptor binding 뿐만아니라 opiates 가 세포막에서 ion flux 나 또는 세포내 ion 농도 변동을 초래하여 그 약리작용을 못할 수 있음이 알려져 있으므로<sup>14-16, 19-21</sup> 본 실험에서는 각각 6예에서 영양액내 수종 양이 온 농도를 달리하여 morphine 작용을 관찰하였다. 한

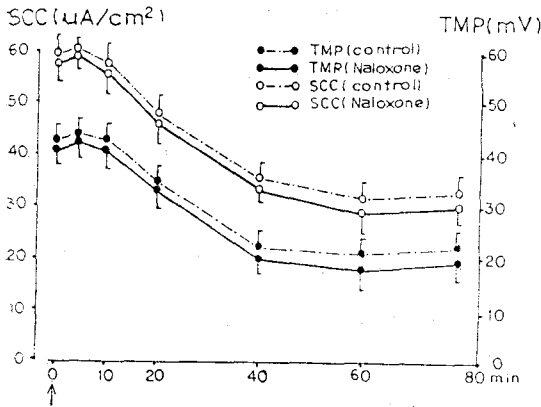


Fig. 3. Influence of naloxone to the action of morphine on transmembrane potential and short circuit current of the frog skin. After control experiments, drug was thoroughly washed out, and  $10^{-4}$ M of naoxone was added to the inner side of the skin about 1 hour prior to morphine. Other legends are the same as in Fig. 2.

편 이하 각 도표의 실험성적은 morphine 투여전 대조치와의 변동을 백분율로써 각 실험치를 표시하였다.

(2)  $Na^+$ 의 영향

영양액내  $Na^+$ 를 28 또는 2.4 mM 로 하고 NaCl 감소에 따른 Cl-농도 감소를 없게 하기 위하여 Cl-감소분은 choline chloride 로 보충하였다.  $Na^+$  28 mM 군에서 morphine 투여전 막전위와 단락전류는 각각  $47 \pm 4.5$  mV 와  $65 \mu A/cm^2$ 로 대조군에서와 큰 차이가 없었다. 그러나 morphine 의 막전위 및 단락전류감소 효과는  $Na^+$ 농도감소로 현저히 강화되었으며,  $Na^+$ 농도를 2.4 mM 로 하였을 때는 더욱 강화되어 morphine 투여 후 40분에 막전위와 단락전류가 '0' 까지 이르렀다( $p < 0.05$ ), (Fig. 4).

한편  $Na^+$ 농도를 2.4 mM 로 한 군에서 morphine 투여전 막전위와 단락전류는  $16.1 \pm 2.1$  mV 와  $13 \pm 2.2 \mu A/cm^2$ 로 대조군에 비하여  $Na^+$ 농도 감소자체로 현저히 감소되었다.

(2)  $K^+$ 의 영향

영양액내  $K^+$ 농도를 8 mM 또는 제거하였을때 morphine 의 작용을 관찰하였다.  $K^+$ 농도증가는 morphine 의 막전위와 단락전류 억제효과를 현저히 강화하였고

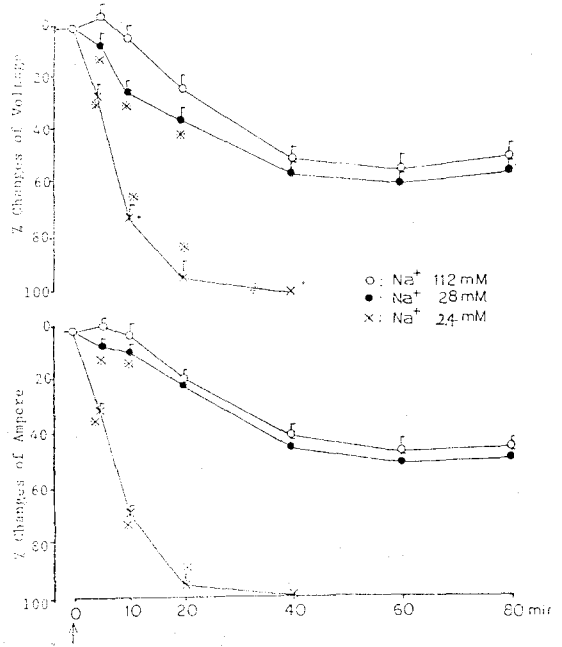


Fig. 4. Influence of  $Na^+$  on the changes of transmembrane potential (upper) and short circuit current (lower) by morphine. Percent changes of TMP and SCC calculated as percentage of pre-administration control values are plotted against time in minutes. At arrow mark,  $5 \times 10^{-3}$  M of morphine was added to the inner side of the skin. Each point denotes mean value from 6 experiments with S.E. \*; Statistically significant from the corresponding value of control experiment ( $p < 0.05$ ).

( $p < 0.05$ ),  $K^+$ 농도 감소는 처음에는 morphine 작용에 거의 아무런 영향을 미치지 못하였으나 morphine 투여 60분후에는 morphine 작용을 점차 억제하는 경향을 보였다(Fig. 5). 한편  $K^+$  8 mM 군에서 morphine 투여전 막전위와 단락전류는  $47 \pm 5.5$  mV 와  $52 \pm 7.1 \mu A/cm^2$ 로 대조군에서와 비슷하였으나  $K^+$  제거군에서는  $29 \pm 8.0$  mV 와  $40 \pm 10.0 \mu A/cm^2$ 로 대조군에 비하여 현저히 감소하였다(Fig. 5).

(3)  $Ca^{2+}$ 의 영향

$Ca^{2+}$ 이 생체막에서  $Na^+$ 투과성에 영향을 미칠 수 있음은 잘 알려져 있으며<sup>34,35</sup> 또한  $Ca^{2+}$ 이 morphine 작용에 길항함이 많은 학자들에 의하여 보고되어 있다<sup>19~21</sup>. 따라서 본 실험에서는 영양액내  $Ca^{2+}$ 농도를 변동시켜 morphine 의 작용을 관찰하였다.  $Ca^{2+}$ 농도증가

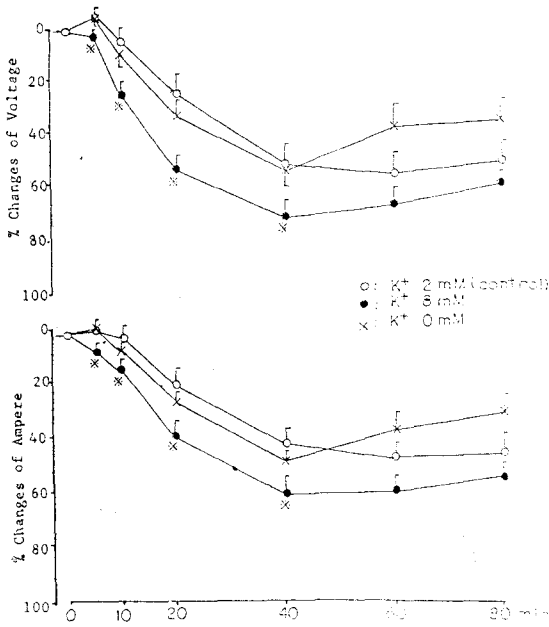


Fig. 5. Influence of  $K^+$  on the changes of transmembrane potential(upper) and short circuit current(lower) by morphine. Other legends are the same as Fig. 4.

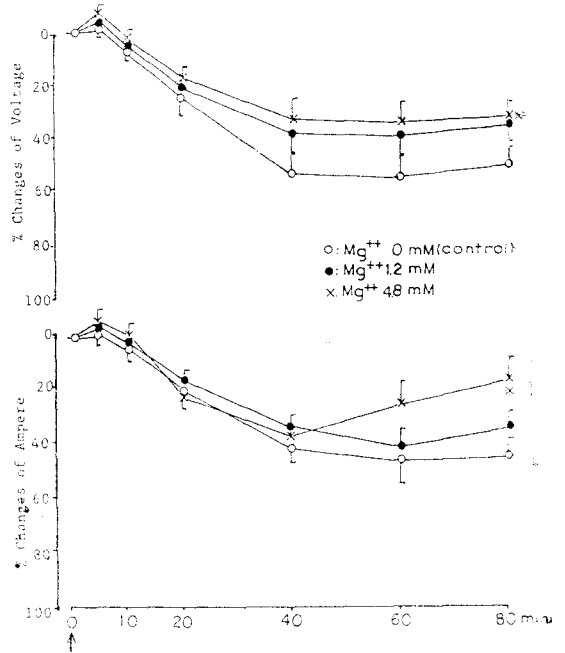


Fig. 7. Influence of  $Mg^{2+}$  on the changes of transmembrane potential (upper) and short circuit current (lower) by morphine. Other legends are the same as Fig. 4.

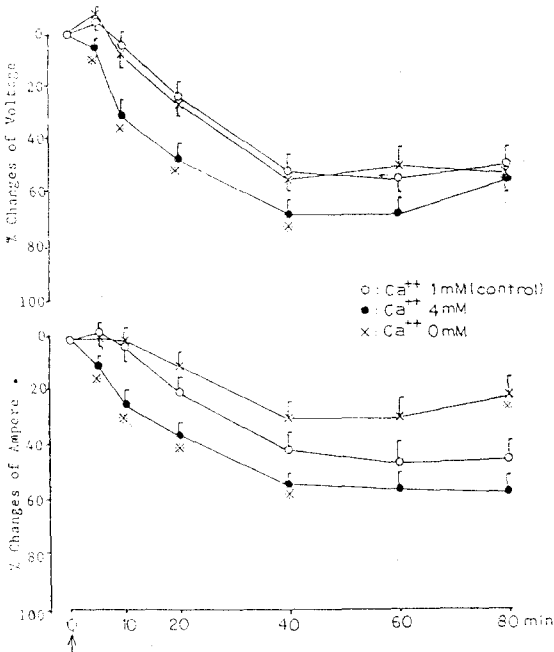


Fig. 6. Influence of  $Ca^{2+}$  on the changes of transmembrane potential (upper) and short circuit current (lower) by morphine. Other legends are the same as Fig. 4.

는 morphine의 막전위 및 단락전류 억제효과를 현저히 강화시켰으나( $p < 0.05$ ),  $Ca^{2+}$ 농도감소는 morphine의 막전위 억제효과에 대해서는 아무런 영향을 미치지 못하였고, 단락전류 억제효과는 시간이 경과함에 따라 약화시켰다(Fig. 6).

한편  $Ca^{2+}$ 농도 변동군에서의 morphine 투여전 막전위와 단락전류는 대조군에서와 비슷하였으나  $Ca^{2+}$ 제거군에서의 막전위는  $28 \pm 2.7$  mV로 대조군에 비하여 현저히 감소되었다(Fig. 6).

#### (4) $Mg^{2+}$ 의 영향

영양액내  $Mg^{2+}$ 농도 증가에 따른 morphine 작용 변동유무를 관찰하였다. 영양액내 1.2 mM의  $Mg^{2+}$  존재시 morphine의 막전위 억제효과는 억제되는 경향을 보였으나, 단락전류 억제효과에는 영향을 미치지 못하였으며,  $Mg^{2+}$ 농도를 4.8 mM로 증가시키면 morphine의 막전위 억제효과와 동시에 단락전류 억제효과를 감소시켰다( $p < 0.05$ ). 특히 이와같은  $Mg^{2+}$ 의 morphine 작용 감소효과는 morphine 투여후 60~80분에 현저하였다(Fig. 7).

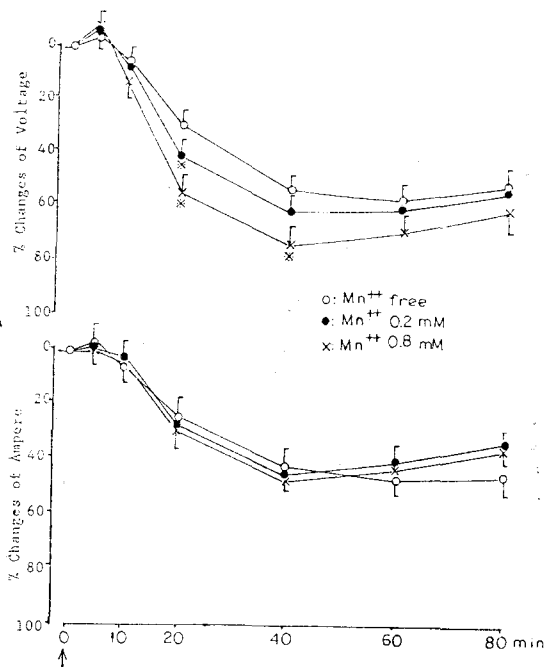


Fig. 8. Influence of  $Mn^{2+}$  on the changes of transmembrane potential (upper) and short circuit current (lower) by morphine. Other legends are the same as Fig. 4.

한편  $Mg^{2+}$ 농도 변동군에서 morphine 투여전 막전위와 단락전류는  $Mg^{2+}$  1.2 mM 군에서  $59 \pm 11.4$  mV,  $75 \pm 5.6 \mu A/cm^2$ 였으며  $Mg^{2+}$  4.8 ml 군에서는  $20 \pm 5.4$  mV,  $49 \pm 4.2 \mu A/cm^2$ 였다(Fig. 7).

#### (5) $Mn^{2+}$ 의 영향

이러  $Mn^{2+}$ 이 morphine 작용에 미치는 영향을 관찰하였다. 영양액내  $Mn^{2+}$ 첨가는 morphine의 단락전류에는 아무런 영향을 미치지 못하였으나, 막전위 억제 효과는  $Mn^{2+}$ 농도 증가에 따라 현저히 강화되었다( $p < 0.0$ ). 그러나 이와같은  $Mn^{2+}$ 의 작용은  $Ca^{2+}$  또는  $Mg^{2+}$ 농도 변동시와는 달리 morphine 투여 초기에 관찰되었으며 시간 경과에 따라 약화되었다(Fig. 8).

한편 영양액내  $Mn^{2+}$ 첨가 자체는 막전위와 단락전류에 아무런 영향이 없었으며  $Mn^{2+}$  0.8 mM 이상의 농도로는 영양액의 혼탁을 초래하여 실험을 행할 수 없었다(Fig. 8).

#### (4) Morphine 장기처리 표본에서의 실험

Morphine addiction 및 dependence 기전에 관하여

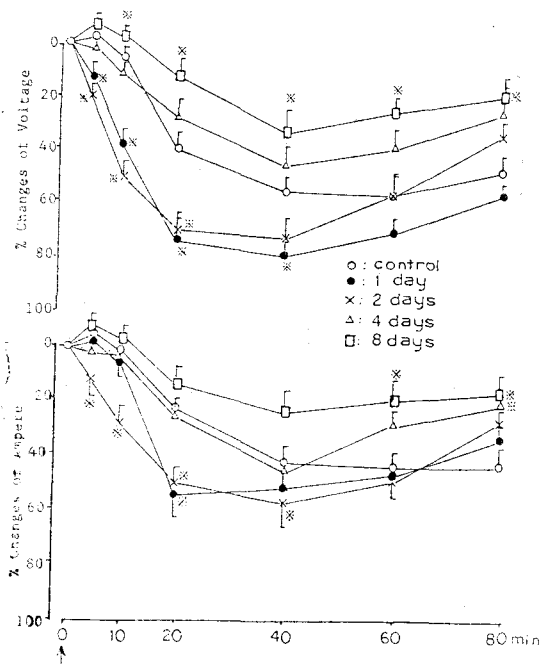


Fig. 9. Effect of morphine on transmembrane potential (upper) and short circuit current (lower) of the morphine treated frog-skin. 4 mg of morphine per 10 gm of body weight was administered into the abdominal lymph sac twice a day for 1, 2, 4 or 8 days. Other legends are the same as Fig. 4.

많은 연구가 행해지고 그 업적들이 보고되어 있으나 최근 morphine이 장기투여시  $Na^+-K^+$  dependent ATPase 억제<sup>36,37)</sup>, 세포막에서의 ion flux의 변동 또는 세포내 특히 synaptosome에서  $Ca^{2+}$ 의 함량을 변동시킨다는 보고<sup>19-21)</sup>가 주목을 끌고 있다. 따라서 본 실험에서는 morphine 장기처리에 따른 ion flux 변동 유무에 관한 지견을 얻고자 각각 6예에서 1, 2, 4 또는 8일동안 morphine을 처리한 표본에서 morphine 처리 자체에서 오는 막전위와 단락전류 변동과 morphine  $5 \times 10^{-3}$  M에 대한 반응을 검토하여 보았다.

Table 1에서 보는 바와 같이 morphine 처리 자체로써 막전위와 단락전류는 morphine 처리초기(1~2일)에는 감소하였으나 점차 증가하여 8일에는  $85 \pm 7.5$  mV와  $120 \pm 6.7 \mu A/cm^2$ 로 현저히 증가하였다( $p < 0.05$ ), (Table 1).

한편 morphine 처리 표본에서 막전위를 보면 morphine 1 또는 2일 처리군에서는 morphine  $5 \times 10^{-3}$  M의 막전위 억제효과가 강화되었으나 morphine 4일 처리군에서는 약화되었으며 8일 처리군에서는 더욱 약화되

Table 1. Effect of chronic morphine treatment on transmembrane potential and short circuit current of frog skin (mean±S.E.)

Experimental group	No. of experiments	Transmembrane potential(mV)	Short circuit current( $\mu$ A/cm <sup>2</sup> )
Untreated	6	42±6.3	59±6.4
Morphine 1 day	6	24±2.1*	54±3.1
Morphine 2 days	6	30±2.7	75±4.5
Morphine 4 days	6	64±14.4	96±14.0*
Morphine 8 days	6	85±7.5*	120±6.7*

\*; Statistically significant with respect to controls injected with 0.6% Saline(p<0.05)

었다(p<0.05).

또한 morphine의 단락전류 억제효과도 morphine 1 또는 2일 처리군에서는 강화되었으나 8일 처리군에서는 현저히 약화되었다(p<0.05), (Fig. 9).

## 고 안

본 실험성적으로 morphine은 개구리 피부의 막전위와 단락전류를 현저히 저하시키고 이와같은 morphine의 억제작용은 naloxone으로 차단되지 않으나, 영양액내 전해질 조성 변동으로 변화됨을 알 수 있다. 즉 이는 morphine의 막전위 및 단락전류 억제효과가 opiate 수용체를 통한 작용이 아니며, 피부에서의 전해질 수송 또는 투과성과 밀접한 관계가 있음을 시사한다.

개구리 피부의 특성은 극히 저농도의 용액에서도 NaCl을 섭취하고<sup>25,26</sup>, 피부의 안<sup>0</sup>에 전위차를 유지하며, 또한 ion 수송에 따른 단락전류가 생기게 되는데 전위차는 주로 외막에서의 Na<sup>+</sup> diffusion potential과 내막에서 Na<sup>+</sup>-pump에 의하여 좌우되는 K<sup>+</sup> diffusion potential에 의하여 이루어지고 단락전류는 net Na<sup>+</sup> 수송과 일치하며 따라서 Na<sup>+</sup>-pump활성에 의하여 좌우되나 pump는 항상 Na<sup>+</sup>로 포화되지 않은 상태에 있고 세포내의 Na<sup>+</sup> pool에 따라 좌우되기 때문에 외막에서의 Na<sup>+</sup>투과성의 변화도 단락전류에 큰 영향을 줌이 잘 알려져 있다<sup>24~26,28~31</sup>). 따라서 막전위와 단락전류 변동을 지표로 삼아 외막의 투과성과 내막의 Na<sup>+</sup>-pump활성도를 대략 추측하여 보면 막전위의 증가는 외막의 투과성이 감소하거나 Na<sup>+</sup>-pump의 활성이 촉진될 경우일 것이며, 막전위의 감소는 외막의 투과성이 증가하여 세포내 Na<sup>+</sup>-pool이 증가되거나 Na<sup>+</sup>-pump가 억제된 경우일 것이고, 단락전류의 증가는 외막의 투과성 또는 Na<sup>+</sup>-pump의 활성증가와 이에 따른 내막에서의 K<sup>+</sup> diffusion potential이 증가될 때, 그리고

단락전류의 감소는 외막의 투과성이 감소하거나 Na<sup>+</sup>-pump의 활성이 억제되었을 때일 것으로 추측할 수 있다.

그런데 본 실험에서 morphine은 막전위와 같이 단락전류도 억제하였다. 이 점은 morphine의 막전위 및 단락전류 억제작용이 일차적으로 Na<sup>+</sup>-pump의 활성을 억제하여 오는 것임을 강력히 추측케 한다. 더우기 본 실험에서 영양액내 Na<sup>+</sup>농도를 감소시켰을 때와 피부의 양측에 K<sup>+</sup>농도를 증가시켜 K<sup>+</sup> diffusion potential을 감소시켰을 때 morphine의 억제작용이 강화된 점, 그리고 피부의 투과성에 대단히 강력한 영향을 미치며, morphine의 약리작용을 질항하는 것으로 잘 알려진 Ca<sup>2+</sup>의 증가<sup>38~40</sup>가 오히려 morphine의 억제작용을 강화한 점은 더욱 이를 뒷받침하여 준다.

본 실험의 morphine 장기처리군에서 표본의 막전위와 단락전류는 약물처리 1일에는 약간 감소했으나 4~8일에는 현저히 상승하였고 또한 morphine에 의한 막전위와 단락전류 억제효과도 약물처리 1~2일에는 강화되나, 8일에는 현저히 약화되었다. 이 성적은 아직도 morphine의 내성발현기전이 충분히 설명되고 있지 않다는 점을 감안할 때 대단히 흥미있는 사실이다. 일반적으로 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>를 포함하여 여러 물질들이 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase활성에 따라 능동적으로 수송되는 잘 알려져 있다<sup>30,31,41,42</sup>). 본 실험에서 morphine처리가 막전위와 동시에 단락전류를 약물처리 초기에는 저하시키나 4~8일후에는 현저히 상승시킨 점 그리고 morphine의 억제작용도 morphine 처리로써 같은 변동양상을 보인 점으로 미루어 morphine처리에 의한 막전위 및 단락전류 변동이 Na<sup>+</sup>의 "수동적인 투과성 변동"때문에 오는 것이라고 설명키는 곤란하다.

최근 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase활성에 대한 morphine의 작용에 관하여 Desai<sup>43</sup> 등은 morphine 장기처리로 생쥐의 신경말단과 mitochondria를 포함하여 뇌조직내

Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase 활성도가 억제됨을 보고하였고, 이들은 더 나아가 진통제가 "catecholamine-sensitive ATPase 활성도"도 억제함을 보고하였다. 또한 이와 관련하여 Collier 등<sup>43,44)</sup>은 morphine이 흰쥐 뇌조직에서 cycline-AMP 생성을 억제한다 하였고, Sharma 등<sup>45)</sup>은 morphine의 "내성 및 약물 의존"을 생화학적인 면에서 morphine에 의하여 초기에 효소의 억제로 인하여 대상으로 효소의 활성도가 증가되기 때문이라 하였다. 이들 성적으로 추측컨대 본 실험에서 morphine에 의하여 초기에 효소의 억제로 인하여 대상으로 효소의 활성도가 증가되기 때문이라 하였다.

이들 성적으로 추측컨대 본 실험에서 morphine의 막전위 및 단락전류 억제작용과 morphine 장기처리시 morphine에 의한 이들 피부의 전기현상 변동을 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase와 쉽사리 연관지어 생각할 수 있으나 본 실험만으로 이를 단정기는 곤란하다. 특히 본 실험중 Ca<sup>2+</sup>-free 또는 Mn<sup>2+</sup>을 첨가했을때 막전위와 단락전류가 병행하여 변동되지 않음은 morphine의 작용이 이들 효소에 대한 작용만이 아님을 말해 주는 것이라 생각할 수 있다. 한편 morphine 처리 1~2일에 morphine의 억제작용이 강화된 점은 이전에 투여된 morphine 축적작용에 의한 것이라고 생각할 수도 있겠으나, 표본을 장치하고 실험전에 약물이 들어 있지 않은 영양액으로 충분히 세척하였던 점으로 미루어 단 작용일 것으로 생각된다. 예컨대 Guerrero-Munoz, Harris, Yamamoto 등<sup>19-21)</sup>은 morphine의 "acute action"은 세포막에서의 Ca<sup>2+</sup> influx를 증대시키거나 "chronic action"은 오히려 Ca<sup>2+</sup> influx를 억제한다 하였는데 본 실험에서 morphine의 처리기간에 따른 차이가 이와같은 ion flux의 변동때문에 올 수 있다고도 생각된다.

## 요 약

경상 또는 morphine을 처리한 개구리(Rana nigromaculata)의 피부에서 Ussing 등의 방법에 의하여 막전위와 단락전류에 미치는 morphine의 작용과 morphine 작용에 미치는 전해질의 영향을 관찰하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

- 1) Morphine 5×10<sup>-3</sup>M은 개구리 피부의 막전위와 단락전류를 현저히 감소시켰으며 약물투여 후 60분에 최고의 효과를 나타냈다.
- 2) Naloxone 10<sup>-4</sup>M은 morphine의 막전위 및 단락전류 억제작용을 차단치 못하였다.
- 3) 영양액내 Na<sup>+</sup>농도감소, K<sup>+</sup>농도증가 및 Ca<sup>2+</sup>농

도증가는 morphine의 막전위 및 단락전류 억제작용을 현저히 강화하였으며, Mn<sup>2+</sup>첨가는 morphine의 막전위 억제효과만을 강화시켰다. 한편 Ca<sup>2+</sup>농도의 감소로써 morphine의 단락전류억제 효과는 현저히 약화되었으며 Mg<sup>2+</sup>농도 증가로써 morphine의 단락전류 억제 효과와 더불어 막전위 억제효과도 감약되었다.

4) Morphine 처리 표본에서 막전위와 단락전류는 morphine 처리 초기에 일시적인 감소를 일으킨 후 증가하여 morphine 처리 4~8일에는 대조군에 비하여 현저히 상승하였다. 또한 morphine의 막전위 및 단락전류 억제효과에 있어서도 morphine 처리 1~2일에는 morphine의 억제효과가 강화되나 morphine의 처리 4 또는 8일에는 현저히 약화되었다.

이상의 실험성적으로 morphine의 약물내성을 포함한 그 약리적작용이 생체막에서의 전해질수송 또는 전해질 투과성에 영향을 미쳐 초래될 수 있음을 시사하는 것으로 추측하였다.

## 參 考 文 獻

- 1) Paton, W.D.M.: *The action of morphine and related substances on contraction and on acetylcholine output of coaxially stimulated guinea-pig ileum.* Brit. J. Pharmacol. 12, 119, 1957.
- 2) Crossland, J. and Slater, P.: *The effects of some drugs on the "free" and "bound" acetylcholine content of rat brain.* Brit. J. Pharmacol. 33, 42, 1968.
- 3) Clouet, D.H. and Iwatsubo, K.: *Mechanisms of tolerance and dependence on narcotic analgesic drugs.* Ann. Rev. Pharmacol. 15, 49, 1971.
- 4) Maynert, E.W. and Klingman, G.L.: *Tolerance to morphine I. Effects on catecholamines in the brain and adrenal gland.* J. Pharmacol. Exp. Ther. 135, 285, 1962.
- 5) Fennessy, M.R., Heimans, P.L.H. and Rand, M.J.: *Comparison of effect of morphine-like analgesics on transmurally stimulated guinea-pig-ileum.* Brit. J. Pharmacol. 37, 436, 1969.
- 6) Kosterlitz, H.W. and Waterfield, A.A.: *An analysis of the phenomenon of acute tolerance to morphine in the guinea-pig ileum.* Brit. J. Pharmacol. 33, 131, 1975.



- 7) Cox, B.M. and Weinstock, M.: *The effect of analgesic drug dependence by induction of receptor. Nature (London) 201, 181, 1966.*
- 8) Kosterlitz, H.W. and Waterfield, A.A.: *In vitro models in the study of structure-activity relationships of narcotic analgesics. Ann. Rev. Pharmacol. 15, 29, 1975.*
- 9) Schaumann, W.: *Inhibition by morphine of the release of acetylcholine from the guinea pig ileum. Brit. J. Pharmacol. 12, 115, 1957.*
- 10) Gyang, E.A. and Kosterlitz, H.W.: *Agonist and antagonist actions of morphine-like drugs on the guinea-pig isolated ileum. Brit. J. Pharmacol. 27:514, 1966.*
- 11) Goldstein, A., Lowney, L.I. and Pal, P.K.: *Stereospecific and non-specific interaction of morphine congener levorphanol in subcellular fractions of mouse brain. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 68, 1742, 1971.*
- 12) Terenius, L.: *Stereospecific interaction between narcotic analgesics and a synaptic membrane fraction of rat brain cortex. Acta Pharmacol. Toxicol. 29, 146, 1974.*
- 13) Hiller, J.M., Pearson, J. and Simon, E.J.: *Distribution of stereospecific binding of potent narcotic analgesic etorphine in human brain. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 6, 1052, 1973.*
- 14) Pert, C.B. and Snyder, S.H.: *Properties of opiate receptor binding in rat brain. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 70, 2243, 1973.*
- 15) Hitzemann, R.J., Hitzemann, G.H. and Loh, H.H.: *Binding <sup>3</sup>H-naloxone in the mouse brain. Effect of ions and tolerance development. Life Sci. 14, 2393, 1974.*
- 16) Lee, C.Y., Akera, T. and Brody, T.M.: *Effect of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>++</sup> and Ca<sup>++</sup> on the saturable binding of <sup>3</sup>H-dihydromorphine and <sup>3</sup>H-naloxone in vitro. J. Pharmacol. Exp. Ther. 202, 166, 1977.*
- 17) Pasternak, G.W., Snowman, A.M. and Snyder, S.H.: *Selective enhancement of (<sup>3</sup>H)-opiate agonist binding by divalent cations. Mol. Pharmacol. 11, 785, 1975.*
- 18) Pert, C.B. and Snyder, S.H.: *Opiate receptor binding of agonist and antagonists affected differentially by sodium. Mol. Pharmacol. 10, 808, 1974.*
- 19) Guerrero-Munoz, F., Guerrero, M.L. and Way, E.L.: *Effect of morphine on calcium uptake by lysed synaptosomes. J. Pharmacol. Exp. Ther. 21, 1370, 1979.*
- 20) Harris, R.A., Loh, H.H. and Way, E.L.: *Antinociceptive effects of lanthanum and cerium in nontolerant and morphine tolerant-dependent animals. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1982, 288, 1976.*
- 21) Yamamoto, H., Harris, R.A., Loh, H.H. and Way, E.L.: *Effect of acute and chronic morphine treatments on calcium location and binding in brain. J. Pharmacol. Exp. Ther. 205, 255, 1976.*
- 22) 鄭錫求, 宋熙善, 曹圭朴: *Naloxone의 효과에 미치는 전해질의 영향. 대한약리학회 잡지. 17, 17, 1981.*
- 23) 權容瑛, 曹圭朴: *Influences of electrolytes on the action of morphine and naloxone in guinea pig ileum. 인쇄중.*
- 24) Du Bois-Reymond, E.: *"Untersuchungen ueber tierischen Elektrizitat." Berl (1948) cited from Ussing, H.H.: Transport of electrolytes and water across epithelia. The Harvey lectures. 59, 1 Academic Press, 1965.*
- 25) Krog, A.: *Osmotic regulation in the frog (Rensculenta) by active absorption of chloride ions. Scand. Arch. Physiol. 76, 60, 1937.*
- 26) Krog, A.: *The active absorption of ions in some fresh water animals. Z. Vergleich. Physiol. 25, 335, 1937.*
- 27) Koefoed-Johnson, V., Levi, H. and Ussing, H.H.: *The mode of passage of chloride ions through the isolated frog skin. Acta Physiol. Scand. 25, 150, 1952.*
- 28) Koefoed-Johnson, V., Ussing, H.H. and Zerahn, K.: *The origin of the short circuit current in the adrenaline stimulated frog skin. Acta Physiol. Scand. 27, 38, 1952.*
- 29) Kirschner, L.B.: *The effect of atropine and*

- curares on the active transport of sodium by the skin of *Rana esculenta*. *J. Cell. Comp. Physiol.* 48,89, 1955.
- 30) Ussing, H.H.: *Relationship between osmotic reactions and active sodium transport in the frog skin epithelium*. *Acta Physiol. Scand.* 63,141, 1965.
- 31) Ussing, H.H. and Zerahn, K.: *Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited, isolated frog skin*. *Acta Physiol. Scand.* 23:110, 1951.
- 32) Bricker, N.S., Riber, T. and Ussing, H.H.: *Exposure of the isolated frog skin to high potassium concentrations of the internal surface. I. Bioelectric phenomena and sodium transport*. *J. Clin. Invest.* 42,88, 1963.
- 33) Klahr, S. and Bricker, N.S.: *On the electrogenic nature of active sodium transport across the isolated frog skin*. *J. Clin. Invest.* 43,922, 1964.
- 34) Curran, P.F., Herrera, F.C. and Flanigan, W. J.: *The effect of  $Ca^{2+}$  and antidiuretic hormone on  $Na^+$  transport across frog skin. II. Sites and mechanisms of action*. *J. Gen. Physiol.* 46,1011, 1963.
- 35) Curran, P.F. and Gill, J.R.: *The effect of calcium on sodium transport by frog skin*. *J. Gen. Physiol.* 45,625, 1962.
- 36) Desai, D. and Ho, I.K.: *The effect of morphine on mouse brain ATPase activities*. *Biochem. Pharmacol.* 26:89, 1977.
- 37) Desai, D. and Ho, I.K.: *Effects of acute and continuous administration of morphine on catecholamine-sensitive adenosine triphosphatase in mouse brain*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 208, 80, 1979.
- 38) Huibdro-Toro, J., Hu, J. and Way, E.L.: *Calcium antagonism of the inhibitory effect of normorphine on the ileum of the morphine-tolerant and non-tolerant guinea-pig*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 218,84, 1981.
- 39) Marshall, I., Phillips, D.G.L. and Nasmyth, P.A.: *Calcium ions, morphine tolerance and nonadrenergic transmission in the mouse vas deferens*. *Europ. J. Pharmacol.* 75:205, 1981.
- 40) Yamamoto, H., Harris, R.A., Loh, R.A. and Way, E.L.: *Effect of acute and chronic morphine treatment on calcium localization and binding in brain*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 205, 255, 2978.
- 41) Skou, J.C.: *The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves*. *Biochem. Biophys. Acta* 23,394, 1957.
- 42) Stein, D.H.: *The movements of molecules across cell membrane*. pp.177, Academic Press, New York, 1967.
- 43) Collier, H.O.J. and Roy, A.C.: *Hypothesis inhibition of E. prostaglandin-sensitive adenylylase as the mechanism of morphine analgesia*. *Prostaglandins.* 7,361, 1974.
- 44) Collier, H.O.J. and Roy, A.C.: *Morphine-like drugs inhibit the stimulation by E. prostaglandin of cyclic AMP formation by rat brain homogenate*. *Nature*, 248,24, 1974.
- 45) Sharma, S.H., Nirenberg, M. and Klee, W.A.: *Morphine receptors of adenylylase activity*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72,590, 1975.