

N-methyl-D-aspartate 수용체 길항제가 몰핀 신체의존성 및 진통내성에 미치는 영향

이선희* · 신대섭 · 유영아 · 김대병 · 이종권 · 김부영

국립보건안전연구원

Comparison of the Effects of MK-801 and Dextromethorphan on Opioid Physical Dependence and Analgesic Tolerance

Sun Hee Lee*, Dae Sup Shin, Young A Yoo, Dai Byung Kim,
Jong Kwon Lee and Pu Young Kim

National Institute of Safety Research, Seoul 122-020, Korea

(Received May 9, 1995)

(Accepted May 16, 1995)

ABSTRACT : *N-methyl-D-aspartate(NMDA) receptor has been well known as an important mediator of several forms of neural and behavioral plasticity. But different results were reported about the effect of MK-801 or dextromethorphan on opioid dependence. The present studies examined whether NMDA receptor antagonists can alter the opioid dependence and tolerance in rodents. Naloxone precipitated withdrawal symptoms and changes of locomotor activities were observed in MK-801 or dextromethorphan pretreated morphine-dependent rats. Tail-flick assay was used for morphine analgesia and tolerance was found after 4 day's consecutive injections (10 mg/kg, s.c., twice/day) of morphine in mice. Locomotor activity was increased and the withdrawal symptoms were decreased by the pretreatment of MK-801 in morphine-dependent rats. But 0.3 mg/kg i.p. of MK-801 intensified the body weight loss and produced severe ataxia and rotation although some withdrawal signs were attenuated. Morphine induced analgesic tolerance was inhibited by the pretreatment of MK-801 and dextromethorphan. Dextromethorphan was more potent than MK-801 in inhibiting the development of the analgesic tolerance in mice. These results suggest that NMDA system may be involved in opioid withdrawal and analgesic tolerance but appropriate caution should be requested when MK-801 is used in combination with opioid because of untoward neurologic signs.*

Key Words : Morphine-dependence, Analgesic tolerance, NMDA, MK-801, Dextromethorphan

I. 서 론

Morphine의 치료효과는 의존성과 내성의 발현으로 인해 제한을 받으며 중독증상이 나타날 경우 부작용이 없는 치료약이 필요하게 된다. 의존성 및 내성발현 기전은 일반적으로 반복투여에 의한 학습 및 기억과정, 신경계의 적응현상으로 인한 신경행동양식의 가역적 변화로 설명되고 있는데(Pratt, 1991; Trujillo와 Akil, 1991a) 최근 신경계 이상의 원인으로 주목되고 있는 흥분성 아미노산 신경전달물질의 한 수용체로서 N-methyl-D-aspartate(이하 NMDA로 약함) 수용체는 학습 및 기억, 신경계의 다변성, 뇌허혈시의 신경독성요인등의 작용을 가지고 있어서 서로 연관성이 있는 것으로 생각된다. 이러한 관점에서

NMDA수용체 길항약중 dextromethorphan 1 mg/kg 및 2 mg/kg 또는 ketamine 1 mg/kg을 랫드에 투여시 morphine 금단증상이 감소되었고(Koyuncuoglu 등, 1990) dextromethorphan은 heroin중독자 치료에 사용될 수 있으리라고 추정되고 있으나(Koyuncuoglu와 Saydam, 1990) dextromethorphan 5 mg/kg 투여 및 ketamine 40 mg/kg 투여에 의해서는 오히려 금단증상이 악화되었다고 하는 등(Koyuncuoglu와 Apricioglu, 1991) 상이한 결과들이 보고되고 있다. 또한 MK-801 [(+)-5-methyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo-a,d-cycloheptan-5,10-iminemaleate]의 morphine의존성 치료효과에 대하여는 연구가 미미한 실정이다. 한편 Marek 등(1991)은 MK-801 및 kynurenic acid가 morphine의 진통내성을 감소시킨다고 보고한 바

있어 본 연구팀은 NMDA 수용체에 대한 비상경적 길항제인 (+) MK-801과 dextromethorphan이 몰핀 의존성 및 진통내성 형성 또는 발현에 미치는 영향을 투여용량별로 비교실험함으로써 몰핀 의존성 및 내성에 대한 NMDA 수용체의 연관성 규명과 함께 각 NMDA수용체길항제의 효과를 비교하여 치료제로서의 가능성 및 부작용 등을 탐색하였기에 이를 보고한다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물

의존성 시험은 6주령-8주령의 Sprague-Dawley 웅성 랫드를 사용하였고 시험기간 중 사육실은 12시간 간격으로 명암이 조절되도록 하였으며 cage는 12시간 간격으로 사료, 음수섭취량 및 운동량이 측정되는 Interval Feeding System(Muromachi Kikai Co.)을 사용하였다. 내성시험에는 약 6주령-7주령의 웅성 ICR 마우스를 사용하였다.

2. 의존성 시험

랫드에 1일 2회씩 30, 45, 60, 90, 120, 120 mg/kg의 morphine을 투여량을 증가하면서 피하 주사하여 (Dambisya 등, 1991) morphine 의존성 랫드를 만들었으며 투여기간 중 명암주기에 따른 사료, 음수섭취량 및 체중의 변화를 측정하였다. 마지막 morphine 투여후 24시간동안 휴약하고 morphine(10 mg/kg)을 피하 주사한 2시간 후에 naloxone 10 mg/kg을 복강주사하여 금단상태를 유발하였다. Naloxone 주사후 1시간동안 15분 간격으로 임상 증상(wet dog shake, jumping, salivation, teeth chattering, ptosis, diarrhea, ataxia, rotation)을 관찰하고, 30, 60, 120, 180분 및 24시간후 체중 변화를 측정하였다 (Woolverton과 Schuster, 1983). MK-801(0, 0.03, 0.1, 0.3 mg/kg) 또는 dextromethorphan(0, 0.3, 1, 3 mg/kg)은 용량별로 naloxone 투여 30분 전에 복강주사하였고, MK-801 또는 dextromethorphan에 의한 morphine 의존성 랫드에서의 운동량 변화를 확인하기 위해 Activity meter (Auto track system, Columbus)를 사용하여 naloxone 주사후 15분 동안 움직인 거리, ambulatory movement, stereotaxic movement, 수직운동, 회전운동과 그 방향성 등을 측정하였다.

3. 내성 시험

마우스에 4일간 1일 2회(09:00, 17:00)씩 각 용량의

MK-801(0, 0.003, 0.01, 0.1, 0.3 mg/kg) 또는 dextromethorphan(0, 0.001, 0.01, 0.1, 0.3, 1 mg/kg)을 복강 주사하고 30분후에 morphine 10 mg/kg를 피하주사하였다(Marek 등, 1991). 5일째 같은 방법으로 오전에 MK-801 또는 dextromethorphan을 전처치 후 morphine을 투여하고, 30, 60, 120분에 tail-flick test를 하였다. Tail-flick test는 Analgesia meter(Hugo Sachs Elektronik, Germany)를 사용하여 강도를 9로 하여 열조사시 꼬리를 피하는 기본 반응시간이 5초 미만인 마우스만을 선택하여 실험에 사용하였다.

4. 통계처리

Naloxone 유발 금단증상 중 체중변화를 제외한 임상증상에 대한 유의성검정($P < 0.01$, $P < 0.05$)은 X^2 -test를 이용하였으며, morphine 의존성 랫드와 비의존성 랫드간의 행동양식 변화에 대한 유의성검정($P < 0.01$, $P < 0.05$)은 Student's t-test를, 또한 각각의 의존성과 비의존성 랫드군 내에서 시험물질 투여에 의한 체중변화와 행동양식의 변화 및 마우스의 진통력 시험결과에 대한 유의성검정($P < 0.05$)은 completely randomized design에 의한 one-way analysis of variance(ANOVA)방법으로 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. Morphine 의존성 랫드에서의 체중 변화

생리식염수만을 피하주사한 정상 랫드의 밤과 낮 명암

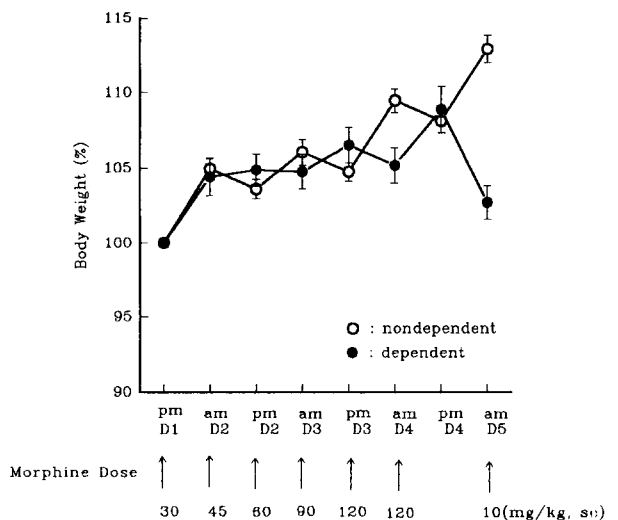


Fig. 1. Body weight changes by repeated administration of morphine in rats.

Table 1. Changes of naloxone precipitated withdrawal symptoms by pretreatment of MK-801 and dextromethorphan (DM) in morphine dependent rats

Treatment	Withdrawal Sx	Body weight loss (%)	Wet dog shake	Teeth chattering	Ptosis	Diarrhea
MK-801	0 mg/kg	3.7±0.4 ^a	7/7 ^{(1-7)^b}	6/7	7/7	4/7
	0.03 mg/kg	5.6±0.5	7/8(0-15)	3/8	4/8*	0/8*
	0.1 mg/kg	4.9±0.8	8/8(3-22)	1/8**	0/8**	0/8*
	0.3 mg/kg	6.3±0.7*	5/8(0-4)*	1/8**	1/8**	1/8*
DM	0 mg/kg	4.9±0.3	7/8(2-6)	8/8	6/8	3/8
	0.3 mg/kg	4.7±0.5	9/9(2-9)	6/9	6/9	0/9
	1 mg/kg	4.3±0.5	9/9(3-8)	6/9	6/9	2/9
	3 mg/kg	3.2±0.4	8/9(1-8)	8/9	8/9	2/9

a : percentage of body weight loss at 1hr after naloxone(10mg/kg, ip) injected 2hr after morphine challenge

b : number of wet dog shake

c : number of positive/total test animal number

* : significantly different from control (P<0.05)

** : significantly different from control (P<0.01)

· Withdrawal signs such as jumping and salivation were also observed.

· Rats treated with MK-801 (0.3 mg/kg) showed severe untoward effects such as ataxia and rotation.

주기에 따른 체중 변화 양상과 비교하여 볼 때, morphine 의존성 랫드의 24시간 주기 체중 변화 양상이 반대로 바뀌었는데(Fig. 1) 이는 morphine 의존성이 형성되어 감을 보여주는 하나의 지표이다. Morphine 의존성 랫드는 naloxone 10 mg/kg 복강투여후 3시간까지 체중 감소를 나타내었으며 24시간 후에는 회복되었다. MK-801 0.03 mg/kg과 0.1 mg/kg 복강투여군은 대조군과 유사한 체중변화를 나타내었으며, MK-801 0.3 mg/kg 복강투여군은 대조군에 비하여 2시간까지 유의적인 체중감소를 나타내었고 24시간 후에도 회복되지 못하였다. 한편, dextromethorphan 투여군은 실험에 사용한 모든 투여용량에서 대조군과 별차이가 없었다(Table 1).

2. Naloxone에 의해 유발된 임상증상의 변화

Morphine 의존성 랫드에 naloxone을 10 mg/kg로 피하 주사후 1시간 동안 morphine의 금단 증상인 wet-dog shake, jumping, salivation, teeth chattering, 안검하수, 설사등을 확인하였다. MK-801 전처치군은 용량의존적으로 teeth chattering 및 안검하수, 설사등의 증상이 경감되었으며 wet-dog shake 및 jumping등은 MK-801 0.3 mg/kg 투여군에서만 감소하였다. 이러한 MK-801 고용량 투여에 의한 금단 증상의 감소 경향은 운동실조등에 의한 것으로 생각되며 MK-801 투여용량 증가에 따라 회전운동, 머리 뒤틀기등 이상 신경 증상이 증가하였다. MK-801투여군에서 개체에 따라 wet-dog shake 횟수가 대조군보다 월등히 큰 경우들이 관찰되었는데, 이와 같이 NMDA수용체 길항제라 하더라도 상이한 결과가 나타나는 것은 morphine 의존성 발현시 NMDA수용체가 직접 작용하는

것이 아니라 생체의 다른 내인성물질을 매개하여 작용할 가능성이 있다고 추론된다. 이는 Koyuncuoglu 등(1992)이 보고한 바와 같이 morphine에 의해 유도되는 NMDA 수용체의 upregulation 또는 과민성반응으로 인해 금단증상이 악화될 수 있다는 실험결과와 일치한다. 즉, MK-801이 morphine 의존시 naloxone 금단증상을 감소시킨 실험결과(Tanganelli 등, 1991)는 한정적인 투여용량에서 나타나는 현상이라 사료된다. 한편, dextromethorphan은 본 실험에 사용한 0.3 mg/kg에서 3 mg/kg용량의 복강투여에 의해서 대조군에 비해 별 차이를 보이지 않았다(Table 1).

3. Naloxone 유발 금단시의 운동량 변화

시험물질을 각 용량별로 복강투여후 15분간의 움직인 거리(Distance travelled, cm, Fig. 2)와 stereotypic movement(Fig. 3) 및 회전운동(clockwise 또는 counterclockwise rotation)은 정상 랫드에서는 MK-801 0.3 mg/kg 투여에 의해 증가하였으나 의존성랫드에서는 MK-801 0.1 mg/kg 투여용량에 의해서도 유의적으로 증가하였고 MK-801을 0.3 mg/kg 투여시 감소하였는데 이는 운동실조에 의한 것이라 생각된다. 한편 dextromethorphan 투여군의 행동양식은 정상랫드 및 의존성랫드에서 모두 대조군과 차이가 없었다(Fig. 2 & Fig. 3). MK-801은 NMDA수용체의 이온 channel에 작용하여 여러 신경생리학적 작용을 차단시키고 자발운동량 증가, 뽀뽀잡기 증가 및 후지근 마비와 운동실조등을 대표적으로 나타내며 이는 투여용량에 대해 biphasic한 양상을 보인다고 한다(Tricklebank 등, 1989; Liljequist 등, 1991). 또한 Trujillo

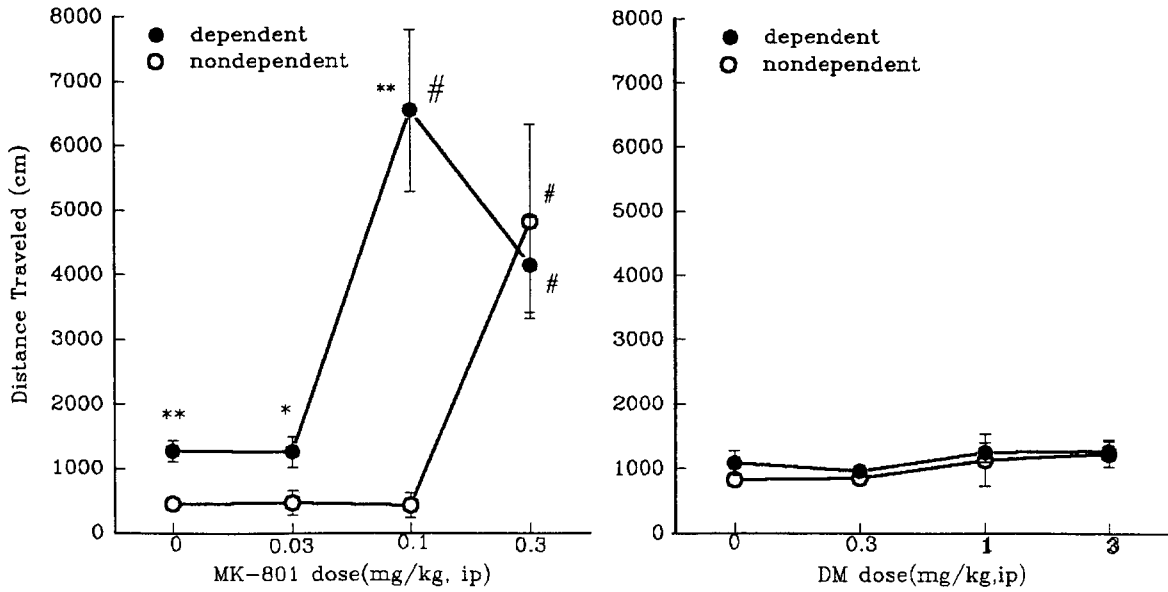


Fig. 2. Effects of MK-801 and dextromethorphan (DM) on the locomotor activities after naloxone administration in morphine-dependent and nondependent rats. Significantly different from nondependent rats at $P < 0.01$, **; $P < 0.05$, *(Student's t-test). Significantly different from saline-treated rats in each morphine-dependent and nondependent group at $P < 0.05$, # (ANOVA).

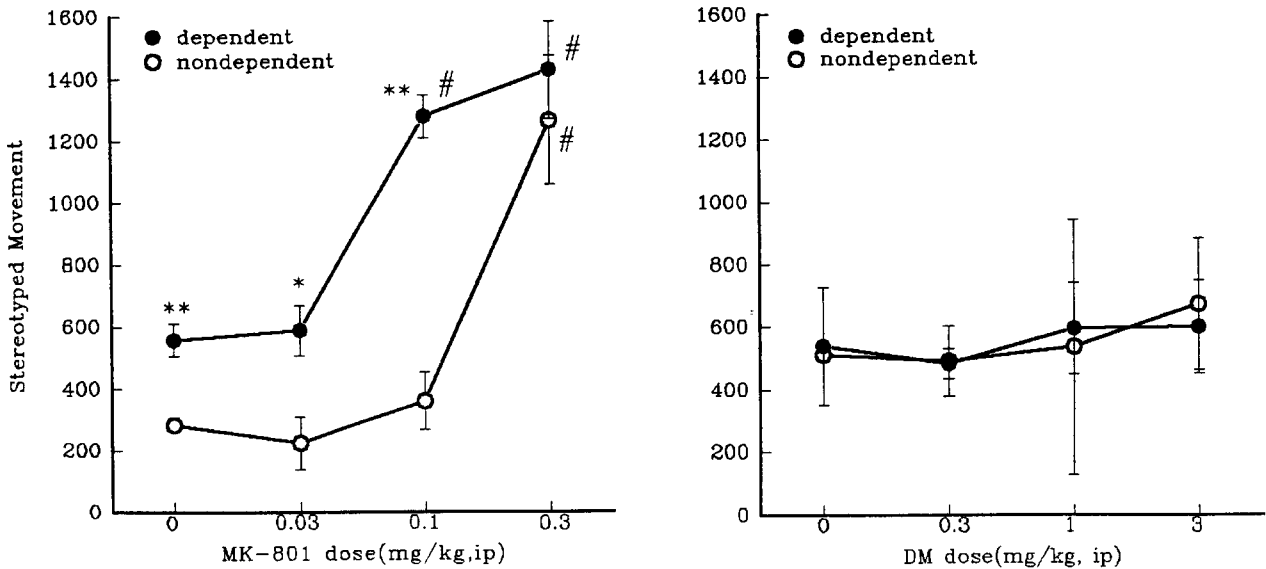


Fig. 3. Effects of MK-801 and dextromethorphan (DM) on the stereotyped movement after naloxone administration in morphine-dependent and nondependent rats. Significantly different from nondependent rats at $P < 0.01$, **; $P < 0.05$, *(Student's t-test). Significantly different from saline-treated rats in each morphine-dependent and nondependent group at $P < 0.05$, # (ANOVA).

등 (1991b)은 MK-801에 의해 morphine이 나타낼 수 있는 근육성 강직과 치사율이 증가된다고 보고하고 있다. 이상의 연구결과는 morphine의존시의 금단증상과 NMDA수용체는 상호연관성이 있으나 morphine의존시 MK-801을 투여할 때는 주의가 필요함을 시사해 준다. 위와 같이 morphine 중독치료제의 개발시엔 운동량변화 등

을 측정하여 간편하게 부작용을 검색할 수 있으리라 사료된다.

4. Morphine 진통내성의 변화

생리식염수만을 투여한 대조군에서는 tail-flick la-

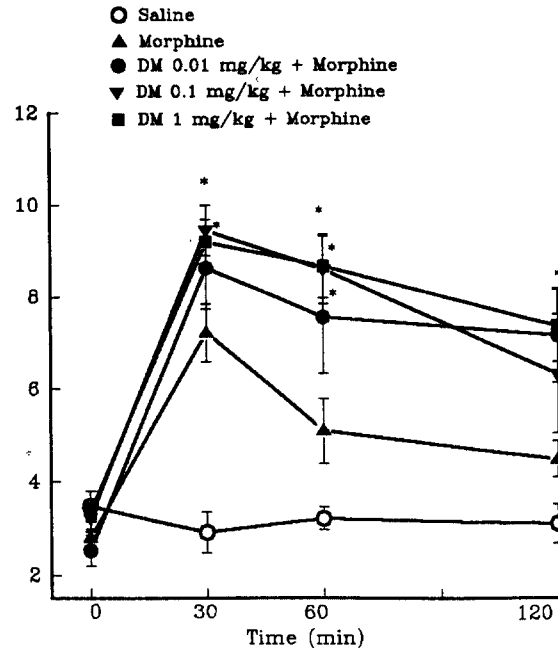
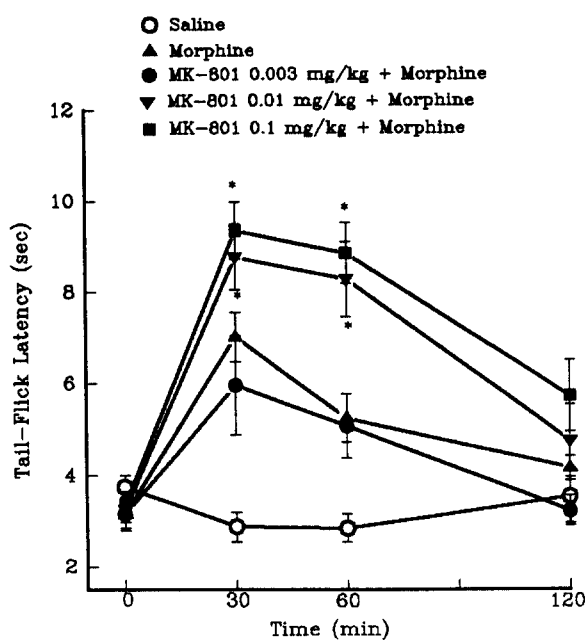


Fig. 4. Effects of MK-801 and dextromethorphan (DM) on the analgesic tolerance in mice. Results represent the tail flick latency-time profiles. Significantly different from control group at $P < 0.05$, * (ANOVA).

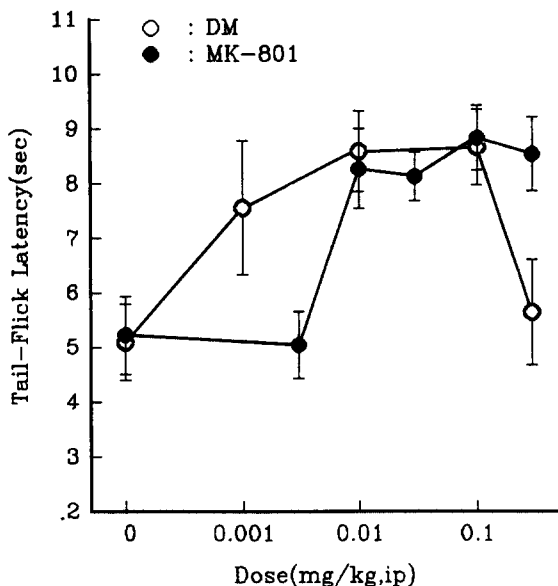


Fig. 5. Comparison of the tail flick latencies measured at 1 hr after last morphine administration by pretreatment of MK-801 and dextromethorphan (DM) in morphine-tolerant mice.

tency가 3-4초 정도로 일정하였으며, morphine 10 mg/kg 를 1회 투여시에는 tail-flick latency가 10초 이상으로 진통효과를 보여 주었다. 그러나 morphine을 4일간 연속투여 후 5일째 tail-flick test를 실시한 결과 1회 투여시보다 시간 경과에 따라 진통력이 감소되어 morphine의 진통

내성이 형성되었음을 확인하였다. 그러나 MK-801 투여군은 투여후 30분, 60분에서 용량의존적으로 유의적인 진통력 증가를 나타내어 morphine 반복투여에 의한 내성 형성을 감소시킴을 알 수 있었다(Fig. 4). Dextromethorphan 투여군도 유사한 경향을 보였으며 그 효능은 MK-801보다 낮은 투여량에서 관찰할 수 있었다(Fig. 5). 이러한 결과들은 흥분성 아미노산계가 내인성 통증억제 기전에 작용하고 있음을 시사해 주며 측정방법 및 사용 동물은 다르지만 MK-801이 opioid 진통내성을 감소시킬 수 있다는 다른 보문(Marek 등, 1991; Trujillo 등, 1991c; Isaac 등, 1990; Ben-Eliyahu 등, 1992)과 일치하였다.

IV. 결 론

Morphine의 신체의존성 및 진통내성시험을 랫드 및 마우스에서 실시하고, N-methyl-D-aspartate(NMDA) 수용체의 비경쟁적 길항제인 MK-801 및 dextromethorphan의 영향을 연구하였다. Morphine의존성 랫드에서의 naloxone 금단증상은 MK-801 투여에 의해 용량의존적으로 감소되는 추세를 보였으나 고용량에서는 근육마비 및 회전운동등 신경이상 증세가 심했다. Dextromethorphan은 morphine 의존성 랫드에서의 naloxone에 의한 금단증상 발현에 영향을 주지 않았으나 마우스에서 morphine 진통내성형성을 억제시켰다. MK-801 역시 morphine 진통내성 형성을 억제하였으나 그 효능은 dextromethorphan이

더 강하였다. 이상과 같이 MK-801 및 dextromethorphan은 morphine계 진통제의 내성형성 억제 목적으로 사용가능하고 흥분성 아미노산계가 morphine 의존성에 관련이 있기는 하나 naloxone 투여후 MK-801의 독성이 강화되므로 MK-801과 morphine을 장기간 병용 투여시에는 주의가 필요하다고 사료된다.

참고문헌

- Ben-Eliyahu, S., Marek, P., Vaccarino, A.L., Mogil, S., Sternberg, W.F. and Liebeskind, J.C. (1992): The NMDA receptor antagonist MK-801 prevents long-lasting non-associative morphine tolerance in the rat. *Brain Research*, **575**, 304-308.
- Dambisya, Y.M., Wong, C.L. and Chan, K. (1991): Effects of sympathomimetic agents on opiate analgesia, tolerance and dependence in mice. *Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.* **13**(4), 239-248.
- Isaac, L., O'Malley, T.V.Z., Ristic, H. and Stewart, P. (1990): MK-801 blocks dynorphin A(1-13)-induced loss of the tail-flick reflex in the rat. *Brain Research*, **531**, 83-87.
- Koyuncuoglu, H., Güngör, M., Sagduyu, H. and Apricioglu, F. (1990): Suppression by ketamine and dextromethorphan of precipitated abstinence syndrome in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **35**, 829-832.
- Koyuncuoglu, H. and Saydam, B. (1990): The treatment of heroin addicts with dextromethorphan: a double-blind comparison of dextromethorphan with chlorpromazine. *International J. of Clinical Pharmacology, Therapy and Toxicology*, **28**(4), 147-152.
- Koyuncuoglu, H. and Apricioglu, F. (1991): Previous chronic blockade of NMDA receptors intensifies morphine dependence in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **39**, 575-579.
- Koyuncuoglu, H., Dizdar, Y., Apricioglu, F. and Sayin, Ü. (1992): Effects of MK-801 on morphine physical dependence: attenuation and intensification. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **43**, 487-490.
- Liljequist, S.L., Ossowska, K., Grabowska-Anden, M. and Anden, N.E. (1991): Effect of the NMDA receptor antagonist, MK-801, on locomotor activity and on the metabolism of dopamine in various brain areas of mice. *European Journal of Pharmacology*, **195**, 55-61.
- Marek, P., Shamgar, B.E., Gold, M. and Liebeskind, J. C. (1991): Excitatory amino acid antagonists (kynurenic acid and MK-801) attenuate the development of morphine tolerance in the rat. *Brain Research*, **547**, 77-81.
- Pratt, J.A. (1991): Psychotropic drug tolerance and dependence: common underlying mechanisms?: The biological bases of drug tolerance. edited by J. A. Pratt, London, Academic Press, 1-28.
- Tanganelli, S., Antonelli, T., Morari, M., Bianchi, C. and Beani, L. (1991): Glutamate antagonists prevent morphine withdrawal in mice and guinea pig. *Neuroscience Letters*, **122**, 270-272.
- Tricklebank, M.D., Singh, L., Oles, R.J., Preston, C. and Iversen, S.D. (1989): The behavioural effects of MK-801: a comparison with antagonists acting non-competitively and competitively at the NMDA receptor. *European Journal of Pharmacology*, **167**, 127-135.
- Trujillo, K.A. and Akil, H. (1991a): Opiate tolerance and dependence: recent findings and synthesis. *The new biologist*, **3**(10), 915-923.
- Trujillo, K.A. and Akil, H. (1991b): The NMDA receptor antagonist MK-801 increases morphine catalepsy and lethality. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **38**, 673-675.
- Trujillo, K.A. and Akil, H. (1991c): Inhibition of morphine tolerance and dependence by the NMDA receptor antagonist MK-801. *Science*, **251**, 85-87.
- Woolverton, W.L. and Schuster, C.R. (1983): Behavioral and pharmacological aspects of opioid dependence: mixed agonist-antagonists. *Pharmacological reviews*, **35**(1), 33-49.