

Effects of Whole Body Irradiation on Morphine, DAMGO, DPDPE, U50,488H and β -endorphin-Induced Antinociception

Tae Won Park¹, Jin Kyu Kim¹, Jae Soo Jeong², Tae Wan Kim³, Young Kyung Cho⁴,
Kyung Nyun Kim⁴, and Ki Myung Chung^{4*}

¹Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongup, Korea

²LG Household & Health Care Ltd., Daejeon, Korea

³Department of Veterinary Physiology, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu, Korea

⁴Department of Physiology and Neuroscience, College of Dentistry and Research Institute of Oral Biology, Gangneung-Wonju National University, Gangneung, Korea

(received Dec 5, 2011 ; revised Feb 7, 2012 ; accepted Feb 14, 2012)

Opioid receptors have been pharmacologically classified as μ , δ , κ and ϵ . We have recently reported that the antinociceptive effect of morphine (a μ -opioid receptor agonist), but not that of β -endorphin (a novel μ/ϵ -opioid receptor agonist), is attenuated by whole body irradiation (WBI). It is unclear at present whether WBI has differential effects on the antinociceptive effects of μ -, δ -, κ - and ϵ -opioid receptor agonists. In our current experiments, male ICR mice were exposed to WBI (5Gy) from a ⁶⁰Co gamma-source and the antinociceptive effects of opioid receptor agonists were assessed two hours later using the hot water (52°C) tail-immersion test. Morphine and D-Ala²,N-Me-Phe⁴,Gly-ol-enkephalin (DAMGO), [D-Pen²-D-Pen⁵]enkephalin (DPDPE), trans-3,4-Dichloro-N-methyl-N-[2-(1-pyrrolidinyl)-cyclohexyl]-benzeneacetamide (U50,488H), and β -endorphin were tested as agonists for μ , δ , κ , and ϵ -opioid receptors, respectively. WBI significantly attenuated the antinociceptive effects of morphine and DAMGO, but increased those of β -endorphin. The antinociceptive effects of DPDPE and U50,488H were not affected by WBI. In addition, to more precisely understand the differential effects of WBI on μ - and ϵ -opioid receptor agonists, we assessed pretreatment effects of β -funaltrexamine (β -FNA, a μ -opioid receptor antagonist) or β -endorphin₁₋₂₇ (β -EP₁₋₂₇, an ϵ -opioid receptor antagonist), and found that pretreatment with β -FNA significantly attenuated the antinociceptive effects of morphine and β -

endorphin by WBI. β -EP₁₋₂₇ significantly reversed the attenuation of morphine by WBI and significantly attenuated the increased effects of β -endorphin by WBI. The results demonstrate differential sensitivities of opioid receptors to WBI, especially for μ - and ϵ -opioid receptors.

Key words: Opioid, Antinociception, Whole-body irradiation, β -funaltrexamine, β -endorphin₁₋₂₇

서 론

생체가 이온화 방사선에 노출되면 생체의 구성성분들이 직접적으로 이온화될 뿐만 아니라 신체의 70% 이상을 차지하는 수분의 이온화로 다량의 과산화물을 생성하여 산화적 스트레스(oxidative stress)상태를 야기한다. 방사선조사에 의해 생체가 흡수하는 방사선의 농도에 따라 생체의 반응은 다양하게 나타나는데, 높은 흡수량에서는 세포 분열의 지연이나 중단 혹은 세포사멸이 나타나기도 하지만 낮은 흡수량에서는 오히려 생체의 항산화계 활성화 및 면역증강 등을 통해 건강을 증진시킬 수도 있음이 알려져 있다[1].

방사선조사에 의한 진통작용은 opioid 수용체에 의해 매개된다고 한다[2-4]. 실제로, 생쥐에 가해진 방사선조사(2.5-15 Gy)는 진통작용을 나타내었으며 이러한 효과는 opioid 수용체 길항제인 naloxone에 의해서 유의하게 감소됨이 보고되었다[3].

Opioid 수용체는 약리학적으로 μ -, δ -, 그리고 κ -형으로 분류되며 일부에서는 ϵ -형의 존재를 주장하고 있지만 아

*Corresponding author: Ki Myung Chung, Department of Physiology and Neuroscience, College of Dentistry, Gangneung-Wonju National University, 120 Gangneung Daehangno, Gangneung 210-702, Korea. Tel: +82-33-640-2461, Fax: +82-33-642-6410 E-mail: ckm@gwnu.ac.kr

직까지는 널리 인정받지 못하고 있다[5]. 그러나, 약리생리학적, 생화학적 그리고 opioid 수용체에 대한 각종 효능제(agonist)나 길항제(antagonist)의 수용체 결합연구(receptor binding studies)를 통해서 μ -형과는 다른 ε -형 수용체의 존재가 밝혀졌다[6-11]. 이후에 β -endorphin과 이의 펩티드 절편인 β -endorphin₁₋₂₇은 부분적으로 μ -형에 그리고 부분적으로 ε -수용체에 친화도를 가지는 것으로 보고되었다[12]. 한편, 임상적으로 중증 혹은 만성환자의 통증을 경감시키는 목적으로 많이 사용되는 morphine은 μ -형 수용체에 주로 결합하는 것으로 알려져 있다[13].

꼬리에 가해진 유해한 열 자극을 회피하는 행동반응에서 방사선조사는 뇌실로 투여된 μ -형 opioid 수용체 효능제의 자극에 의한 진통효과를 유의하게 감소시키나 δ -형 효능제의 진통효과에는 아무런 영향을 주지 않는다[4]. 마찬가지로, 최근의 실험결과도 생쥐에 가해진 방사선조사는 뇌실로 투여된 morphine의 진통효과는 유의하게 감소시킴을 확인하였다. 그러나, 동일 경로로 투여된 β -endorphin의 진통효과는 오히려 유의하게 증가하였다[14]. 흥미롭게도, 뇌세포의 대표적 항산화물질인 glutathione을 고갈시키는 약물을 미리 처치하여 뇌의 산화적 스트레스 상태를 유발시킨 후에 뇌실로 투여된 morphine과 β -endorphin의 진통작용은 앞에 기술한 방사선조사 효과와 유사한 결과를 보여주는데[15], 이는 적어도 방사선조사에 의해 glutathione의 고갈과 이에 기인한 산화적 스트레스 상태가 이러한 결과를 초래한 것임을 시사한다. Opioid 수용체 효능제들이 보이는 진통효과에 대한 방사선조사의 연구는 morphine(μ -형의 효능제)에 대해서는 일부 보고되었으나 다른 opioid 수용체 효능제들의 진통작용에 미치는 영향을 보고한 논문은 아직 거의 없다.

따라서, 본 연구는 우선, μ -, δ -, κ -, 그리고 ε -형 opioid 수용체에 각각 작용하는 것으로 알려진 효능제인 morphine과 D-Ala²,N-Me-Phe⁴,Gly-ol-enkephalin (DAMGO), [D-Pen²-D-Pen⁵]encephalin (DPDPE), trans-3,4-Dichloro-N-methyl-N-[2-(1-pyrrolidiny)-cyclohexyl]-benzeneacetamide (U50,488H), 그리고 β -endorphin을 뇌실로 투여하여 이들이 보이던 진통효과가 방사선조사에 의해 어떻게 영향을 받는지를 생쥐에서 알아보았으며, 방사선조사에 의해 morphine 혹은 DAMGO의 진통효과는 감소, β -endorphin의 진통효과는 증가, DPDPE와 U50,488H의 진통효과는 변화가 없음을 관찰하였다. 마지막으로, 방사선조사의 morphine과 β -endorphin의 진통효과에 미치는 기전을 좀 더 상세하게 밝히고자 μ -형 opioid 수용체 길항제로 알려진 β -funaltrexamine (β -FNA)와 ε -형 opioid 수용체의 길항제로 알려진 β -endorphin₁₋₂₇의 효과를 조사하였다[12].

실험재료 및 방법

실험동물

본 연구는 강릉원주대학교 실험동물윤리위원회의 승인을 얻었으며, 의식 있는 동물의 실험에 관한 통증연구학회의 윤리적 규정을 준수하였다. 실험동물은 수컷 ICR계 생쥐(23-25 g)를 한국화학연구소(대전)와 대한실험동물에서 구입하여 사용하였고, cage 당 5마리를 22°C의 온도에서 실험동물용 사료와 물을 자유로이 공급하면서 사육하였다.

전신방사선조사

방사선조사는 기존에 보고된 방법과 동일하다[14]. 5 Gy(그레이; 흡수선량의 국제단위로 1 Gy는 100 rad와 동일함)의 방사선을 생쥐에 조사하기 위해 의식 있는 생쥐를 환기가 잘 되는 plexiglass box (10×3.5×4 cm)에 넣어 스트레스를 받지 않을 정도로 움직임을 제한하여 한국원자력연구소의 ⁶⁰Co 시설(Panoramic Irradiator, approximately 1000 Ci capacity, Atomic Energy of Canada Ltd.)의 방사원으로부터 γ -선이 1분 당 167 cGy가 방사되도록 하였다. 대조군은 방사선에 노출시키는 것 외에는 실험군과 동일하게 시행하였다.

유해 온열 꼬리회피 행위 측정

생쥐의 꼬리를 말단에서 5 cm를 자로 미리 표시하여 뜨거운 물(52°C)에 담그면 꼬리가 유해한 뜨거운 열자극을 피하는 회피행동을 보이는데, 꼬리를 뜨거운 물에 담그기 시작하여 꼬리회피반응을 보이는 순간까지 소요되는 시간을 초시계로 측정하여 통증정도를 측정하였다[15,16]. 약물을 처치하기 전의 회피반응 소요시간은 충분한 시간의 간격으로 3회를 측정하여 평균으로 결정하였다. 유해한 열 자극이 지속되면 생쥐의 꼬리조직이 손상되기 때문에 꼬리보호를 위해서 유해 열 자극에 노출되는 시간은 10초로 제한하였다. 약물들의 진통효과는 % MPE (percentage of maximal possible effect)로 표시하였으며, % MPE = [(약물처치 후에 시행한 꼬리회피까지 소요된 시간(초) - 약물 전에 시행한 꼬리회피까지 소요된 시간(초)) / (10 - 약물처치 전에 시행한 꼬리회피까지 소요된 시간(초))] × 100으로 계산하였다.

약물들의 뇌실 투여 및 실험 디자인

Opioid 수용체 효능제와 길항제의 뇌실 투여는 Haley와 McCormick의 방법으로 시행하였다[17]. 모든 약물들의 뇌실 투여량은 생쥐 당 5 μ l이었으며 1% methylene blue 용액을 약물투여와 같은 경로로 투여한 결과 뇌실 전역으로 분포하는 것을 확인하였다. 진통효과를 측정하기 위한 꼬리회피반응은 방사선 조사 120분 후에 측정하였다[14].

우선, μ -, δ -, κ - 그리고 ϵ -opioid 수용체의 활성화에 의한 진통작용에 전신방사선조사가 어떠한 영향을 미치는지를 조사하고자 5 Gy의 방사선을 생쥐에 조사하고 120분 후에 각 수용체에 작용하는 효능제들을 뇌실로 투여하여 방사선조사가 이들 진통효과에 미치는 영향을 조사하였다. Opioid 수용체에 작용하는 효능제들에는 μ -형에 대해서는 morphine과 DAMGO, δ -형에 대해서는 DPDPE, κ -형에 대해서는 U50,488H, 그리고 ϵ -형에 대해서는 β -endorphin을 사용하였다. 사용된 약물들의 용량과 처치시간은 morphine은 1 μ g, DAMGO는 5-25 ng, DPDPE는 5-25 μ g, 그리고 U50,488H은 30-60 μ g를 진통효과 측정 20분 전에, 그리고 β -endorphin은 0.2-1 μ g를 진통효과 측정 30분 전에 투여하였다.

부가적으로, 방사선조사에 의해 유의한 영향을 받은 morphine, DAMGO, 그리고 β -endorphin의 작용기전을 밝히기 위해서 μ -opioid 수용체 길항제인 β -FNA와 아직 ϵ -opioid 수용체의 길항제가 알려져 있지 않아서 자체적으로도 약간의 진통효과를 가지지만 β -endorphin의 진통작용을 강하게 차단하는 것으로 알려진 β -endorphin₁₋₂₇의 처치효과를 조사하였다[18]. β -FNA은 10 μ g를 24시간 전에 처치하였고, β -endorphin₁₋₂₇은 3 μ g를 opioid 투여 20분 전에 뇌실로 처치하였다. Morphine은 제일제약(한국)에서 구입하였고 morphine을 제외한 모든 시약들은 SIGMA (Sigma-aldrich Co., USA)사의 제품을 사용하였으며 모든 약물들은 실험 직전에 멸균된 생리식염수에 녹여 사용하였다.

통계 분석

모든 실험 결과의 통계처리는 GraphPad Prism Version 5.0. 프로그램에 의한 unpaired student's *t*-test를 이용하여 상호 유의성을 검정하였으며 모든 결과는 mean \pm SEM으로 표시하였다.

실험 결과

DAMGO, DPDPE, U50,488H, 그리고 β -endorphin의 진통효과에 대한 전신방사선조사의 영향

이전의 보고에서 방사선조사 자체가 진통효과를 보이며 이 효과는 서서히 증가되기 시작하여 120분 후에 최대를 보이다가 점차 감소되는 경향을 보였다[14]. 따라서, 본 실험들은 모두 5 Gy의 방사선조사에 의해 최대의 진통효과를 보여주는 방사선조사 120분 후에 약물들의 효과를 알아보았다.

μ -Opioid 수용체 효능제인 DAMGO[19]는 5-25 ng의 농도수준에서, 그리고 주로 μ -opioid에 작용하는 morphine 1 μ g은 뇌실 투여에 의해 강한 진통작용을 보였으나 이러한 효과들은 5 Gy의 방사선조사에 의해 유의하게 감소되었다(Fig. 1). 한편, δ -opioid 수용체에 작용하는 DPDPE

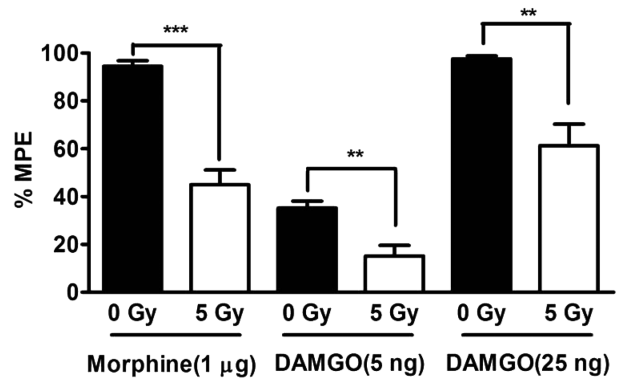


Fig. 1. Effect of whole body irradiation (WBI) on antinociception mediated by the μ -opioid receptor. Mice were whole body irradiated with 5 Gy of γ -ray, and allowed to rest for 120 min. Morphine (1 μ g/5 μ l) or DAMGO (5-25 ng/5 μ l) was injected into the mouse third ventricle. Antinociception was assessed 20 min after agonist injection in the 52°C hot-water tail-flick test. % MPE denotes the percentage of the maximal possible effect. The antinociceptive effect of morphine (1 μ g) was significantly attenuated by WBI ($^{***}p < 0.001$), compared with morphine alone. The effects of DAMGO (5-25 ng) were significantly attenuated by WBI ($^{**}p < 0.01$), compared with DAMGO alone. All data points are the means \pm S.E.M. (n = 7-8).

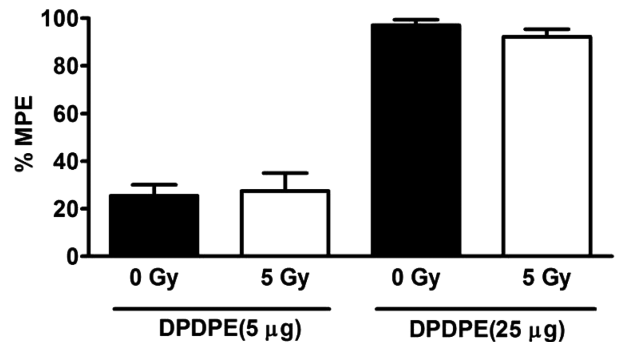


Fig. 2. Effect of WBI on antinociception mediated by the δ -opioid receptor. Mice were whole body irradiated with 5 Gy of γ -ray, and allowed to rest for 120 min. DPDPE (5-25 μ g/5 μ l) was injected into the mouse third ventricle. Antinociception was assessed 20 min after agonist injection in the 52°C hot-water tail-flick test. WBI did not affect the antinociceptive effect of DPDPE (5-25 μ g). All data points are the means \pm S.E.M. (n = 7-8).

[19]는 5-25 μ g의 농도수준에서, 그리고 κ -opioid 수용체에 작용하는 U50,488H[19]는 30-60 μ g의 농도수준에서 5 Gy의 방사선조사에 의해 아무런 영향을 받지 않았다(Figs. 2 & 3). 흥미롭게도, 부분적으로 μ -와 그리고 주로 ϵ -opioid 수용체를 자극하여 진통작용을 보이는 것으로 보고된 β -endorphin은 0.2-1 μ g의 농도에서 유의한 진통작용을 보였으며 이러한 효과는 5 Gy의 방사선조사에 의해 유의하게 증가하는 경향을 보였다(Fig. 4).

따라서, 이러한 결과들은, μ -와 ϵ -opioid 수용체들의 자극에 의한 진통작용은 5 Gy의 방사선조사에 의해 영향을 받음을 보여주며 작용방식에도 차이가 있음을 알 수 있다. 그러나, δ -와 κ -opioid 수용체들의 진통효과는 방사선

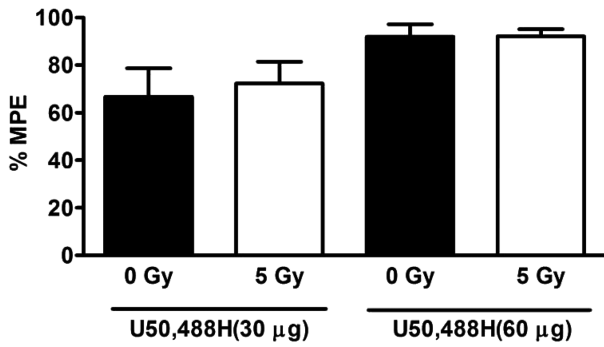


Fig. 3. Effect of WBI on antinociception mediated by the κ -opioid receptor. Mice were whole body irradiated with 5 Gy of γ -ray, and allowed to rest for 120 min. U50,488H (30-60 μ g/5 μ l) was injected into the mouse third ventricle. Antinociception was assessed 20 min after agonist injection in the 52°C hot-water tail-flick test. WBI did not affect the antinociceptive effect of U50,488H (30-60 μ g). All data points are the means \pm S.E.M. (n = 7-8).

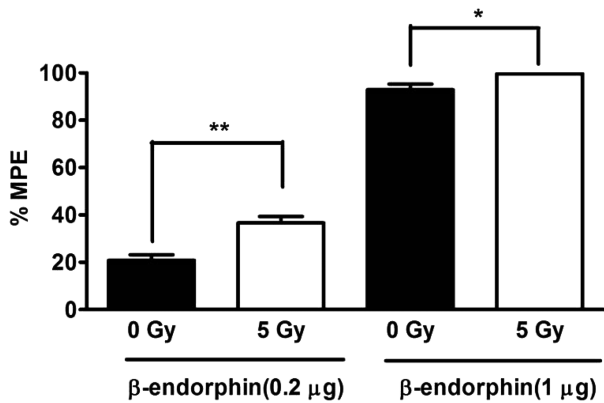


Fig. 4. Effect of WBI on antinociception mediated by the novel ϵ -opioid receptor. Mice were whole body irradiated with 5 Gy of γ -ray, and allowed to rest for 120 min. β -Endorphin (0.2-1 μ g/5 μ l) was injected into the mouse third ventricle. Antinociception was assessed 30 min after agonist injection in the 52°C hot-water tail-flick test. WBI significantly increased the antinociceptive effect of β -endorphin ($p < 0.01$ and $p < 0.05$ for 0.2 and 1 μ g, respectively), compared with β -endorphin alone. All data points are the means \pm S.E.M. (n = 7-8).

조사에 의해 별다른 영향을 받지 않음을 알 수 있다.

전신방사선조사에 의한 Morphine과 β -endorphin의 진통작용에 대한 β -FNA와 β -endorphin_{1,27}의 처치 효과

다음으로, morphine, DAMGO, 그리고 β -endorphin의 뇌실 투여에 유발된 진통작용이 5 Gy의 방사선조사에 의해 유의한 영향을 받았기 때문에 이러한 방사선조사 효과가 morphine, DAMGO, 그리고 β -endorphin이 주로 결합하는 μ -와 ϵ -opioid 수용체와의 결합에 영향을 미쳐서 나타난 결과인지를 알아보려고 방사선조사 상태에서 μ -opioid 수용체 길항제인 β -FNA 10 μ g과 주로 ϵ -opioid 수용체에서 β -endorphin의 결합을 방해하는 것으로 알려진 β -endorphin_{1,27} 3 μ g의 뇌실 처치효과를 이들 약물의 처치

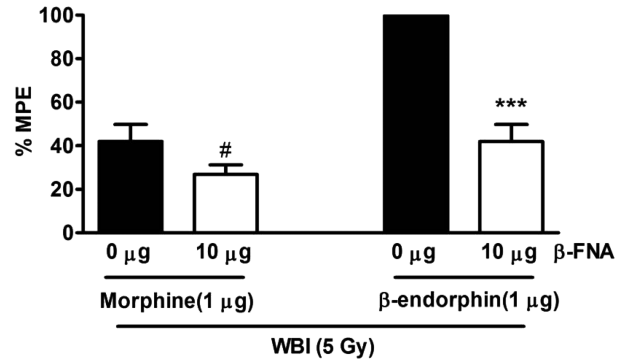


Fig. 5. Effect of β -funaltrexamine (β -FNA), a μ -opioid receptor antagonist, on combined treatment of (Left) morphine (1 μ g, i.c.v.) or (Right) β -endorphin (1 μ g, i.c.v.) with WBI (5 Gy). β -FNA (10 μ g) significantly attenuated combined effect of morphine and WBI ($p < 0.05$). The increased combined effects of β -endorphin with WBI also significantly attenuated by β -FNA (10 μ g) ($***p < 0.001$) compared with β -endorphin plus WBI alone. All data points are the means \pm S.E.M. (n = 6-7).

하기 이전과 비교하였다. Fig. 5에서 보는 것처럼 β -FNA 처치는 방사선조사에 의해 유의하게 감소한 morphine의 진통효과를 더욱 감소시켰다($\#p < 0.05$, n = 6-7). 마찬가지로, 방사선조사에 의해 증가된 β -endorphin의 진통효과도 더욱 감소시켰다($***p < 0.001$, n = 6-7). 한편, 방사선 조사가 없는 상태에서 자체적으로 뇌실로 투여되면 β -endorphin보다는 매우 약하긴 하지만 진통효과를 보여주면서도 β -endorphin의 진통효과를 강력하게 감소시켜 β -endorphin이 작용하는 ϵ -수용체의 길항제로도 알려져 있는 β -endorphin_{1,27}[18]을 방사선조사 상태에서 처치한 결과, Fig. 6에서 보는 것처럼 방사선조사에 의한 morphine의 진통감소효과를 방사선조사 이전수준에는 미치지 못하지만 유의하게 증가시켰다($*p < 0.01$, n = 7-8). 반면에, 방사선조사에 의해 증가된 β -endorphin의 진통효과는 유의하게 감소시키는 모습을 보였다($++p < 0.01$, n = 6-7).

고찰

Opioid 수용체의 종류에 대해서는 일반적으로 μ -, δ -, 그리고 κ -형이 잘 알려져 있으나, ϵ -형 opioid 수용체가 신경계에서도 존재하는지에 대해서는 소수의 의견으로 받아들여지고 있다. ϵ -형 opioid 수용체의 존재에 대해서는 처음으로 Wuster 등이 신경계가 아닌 평활근의 전기자극에 의한 수축에 대한 opioid 약물들의 억제를 실험하는 과정에서 제안하였으며[20], 전형적인 μ -형과 δ -형의 반응과는 다른 독특한 특성들을 보임을 보고하였다. 이후 Tseng과 그의 동료들은 생쥐뿐만 아니라 흰쥐의 척수상부에 투여된 β -endorphin에 의한 진통작용이 척수상부의 ϵ -형 수용체에 의해 매개된다는 가능성을 조사하여 보고하였다[9,10]. 이들의 연구결과들에 의하면 척수상부에 투

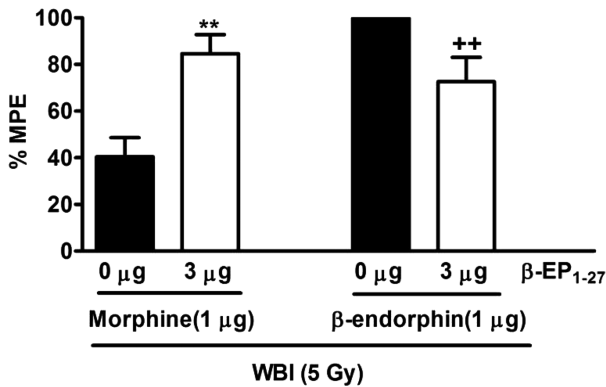


Fig. 6. Effect of β -endorphin₁₋₂₇ (β -EP₁₋₂₇, i.c.v.) on combined treatment of morphine (1 μ g, i.c.v.) or β -endorphin (1 μ g, i.c.v.) with WBI (5 Gy). (Left) β -EP₁₋₂₇ significantly reversed the attenuated antinociceptive effects of morphine by WBI (** $p < 0.01$), compared with morphine plus WBI alone. (Right) β -EP₁₋₂₇ significantly reversed the increased antinociceptive effects of β -endorphin by WBI (** $p < 0.01$), compared with β -endorphin plus WBI alone. All data points are the means \pm S.E.M. (n = 6-7).

여된 β -endorphin은 μ -, δ -, κ -opioid 수용체와는 다른 ϵ -형으로 추측하는 opioid 수용체를 자극하여 진통작용이 나타난다는 것이었다. 더구나, ϵ -형 리간드로 추정되는 bremazocine과 etorphine을 뇌실로 주사하면 β -endorphin과 같은 하행성 경로를 활성화한다고 주장하였다[9]. 그러나, 이런 약물들이 진통연구에서도 효능제로 작용하는지는 의문인데 흰쥐 정소의 bioassay와 뇌의 binding 연구에서는 길항제로 제시되었기 때문이다. 그 후, [³⁵S]GTP γ S binding assay를 통하여 생쥐의 뇌조직에서 β -endorphin은 μ -, δ -, κ -형과는 다른 형의 opioid 수용체를 활성화하는 것임을 보고하였다. 예를 들면, β -endorphin은 선택적인 μ -, δ -, κ -형 길항제가 각각의 수용체들에 결합한 조건하에서 pons와 medulla의 세포막에서 상당량의 G-단백의 활성을 유도할 수 있었는데[12], 이는 β -endorphin이 μ -, δ -, κ -opioid 수용체가 아닌 G-단백과 coupling된 새로운 opioid 수용체에 결합함을 시사한 것이다. 게다가, 인위적으로 μ -opioid 수용체를 제거한 knock-out된 생쥐의 pons와 medulla의 세포막에서 과다한 농도의 δ -와 κ -형 길항제로 이들 수용체를 완전하게 차단한 조건에서도 β -endorphin은 [³⁵S]GTP γ S 결합을 유의하게 자극하였는데[21], 이들은 남아있는 ϵ -형 수용체에 결합한 β -endorphin의 효과인 것으로 해석하였다. 그러나, 다른 실험실에서 기존 약물에 의한 opioid 수용체 차단법 대신에 유전자 변형을 통하여 생쥐 뇌조직의 ϵ -부위가 μ -, δ -, κ -형 수용체들과는 별개인지를 밝히고자 μ -, δ -, κ -형 수용체들이 모두 제거된 triple knock-out 생쥐를 사용하여 [³⁵S]GTP γ S 결합실험을 소뇌를 제외한 전체 뇌조직에서 조사하였는데 Mizoguchi 등과는 상이한 결과를 얻었다. 즉, Mizoguchi 등의 결과들과[12,21]과는 달리 β -endorphin의 ϵ -형에 매개된 활성도가 μ -, δ -, κ -형 수용체가 제거된

mutant mice에서는 완전히 사라졌음을 보고하였다[5]. 따라서, non- μ -, non- δ -, non- κ -형인 ϵ -형 결합부위가 실제로 존재하는지에 대해서는 아직도 의견이 일치하지 않으며 다양한 추측들이 존재한다[9,10,22,23].

본 연구에서는 생쥐에 5 Gy의 강도로 조사하였는데 이는 치사량에는 훨씬 미치지 못하지만 조직과 세포에 상당한 산화적 스트레스를 유발하는 농도이다[24]. μ -형 수용체를 자극하는 morphine과 DAMGO의 진통작용은 방사선조사에 의해 유의하게 감소되었는데, 이는 과거의 보고들과도 일치한다[4,14]. δ -형 수용체를 자극하는 DPDPE의 진통작용은 방사선조사에 의해 별다른 영향을 받지 않았는데, 이것도 역시 과거논문의 결과와 일치한다[4]. κ -형 수용체의 자극에 의해 유발된 진통작용에 대한 방사선조사의 효과는 아직 보고된 바가 없으나, 본 연구에서는 U50,488H의 뇌실 투여에 의한 κ -형 수용체의 자극에 의한 진통작용이 방사선조사에 별다른 영향을 받지 않음을 알 수 있었다. 흥미롭게도 μ -형에도 결합하지만 주로 ϵ -형 결합부위를 자극한다고 알려진 β -endorphin[10]은 뇌실 투여로 진통효능을 보였고 방사선조사에 의해 오히려 증가되었는데, 이는 과거 연구에서도 확인된 바 있다[14].

특히, μ -형의 효능제로 알려진 morphine과 DAMGO와 μ -형과 주로 ϵ -형 수용체를 자극하는 것으로 알려진 β -endorphin의 효능에 대한 방사선조사의 서로 상반된 결과는 매우 흥미롭다. 이러한 결과는 뇌조직 내의 항산화제인 glutathione 고갈에 의한 산화적 스트레스상태에서 뇌실로 투여된 morphine의 진통작용은 감소한 반면에 β -endorphin의 진통작용은 오히려 증가하였다는 과거의 보고와 매우 흡사하다[15]. 따라서, 다른 여러 기능성들을 배제할 수는 없지만 방사선조사에 의한 뇌조직 내 glutathione 고갈에 의한 산화적 스트레스 상태가 주요 원인중의 하나로 작용했을 것으로 추측하고 있다.

β -endorphin₁₋₂₇은 β -endorphin의 C-terminal에서 4개의 아미노산이 제거된 생체 내에 존재하는 펩티드로 주로 ϵ -형 수용체에 친화도를 가지며[9,12], 척수로 투여되면 β -endorphin보다는 상당히 약하지만 자체적으로도 진통작용을 나타내나 β -endorphin과 동시에 투여되면 β -endorphin의 진통효과를 강력하게 약화시키는 것으로 알려져 있어서[9,18], 진통연구에서 ϵ -형 수용체의 길항제로 널리 언급되고 있다. β -FNA의 처치는 방사선에 의해 감소한 morphine과 증가된 β -endorphin의 진통효과를 모두 유의하게 감소시켰다. 반면, β -endorphin₁₋₂₇은 방사선조사에 의해 감소되었던 morphine의 진통효과는 유의하게 증가시킨 반면에 β -endorphin의 진통효과는 감소시켰다. 이에 대한 해석이 쉽지는 않지만 β -endorphin은 μ -형과 주로 ϵ -형 모두에 작용하는 효능제이다. 따라서, Fig. 5에서 보인 방사선에 의한 morphine과 β -endorphin의 진통효과가 μ -형 길항제인 β -FNA에 의해 모두 감소한 것은 μ -형 수

용체에도 결합하여 진통효과를 보이는 β -endorphin의 μ -형 수용체에 의한 효과인 것으로 보인다. Fig. 6의 결과도 해석이 어렵지만 β -FNA처럼 해석한다면 β -endorphin₁₋₂₇는 자체적으로 ε -형에 결합하여 진통작용을 보이는데 β -endorphin처럼 μ -과 ε -형 모두에 작용하되 아마도 μ -형 보다는 주로 ε -형에 의한 가능성이 높다. 왜냐하면, μ -형에 의한 효과라면 방사선에 의해 진통감소효과가 나타나야 할 것인데 본 연구결과는 방사선에 의해 감소된 morphine의 진통효과가 증가되었다. 따라서, 이는 방사선조사에 의한 β -endorphin이 주로 결합하는 ε -부분의 자극에 의한 진통증강효과처럼 β -endorphin₁₋₂₇도 β -endorphin보다는 매우 약하지만 ε -부분의 자극에 의한 진통효과와 남아있는 morphine의 효과가 합쳐진 것으로 추정할 수 있다. β -endorphin₁₋₂₇은 ε -부분의 자극효과에도 불구하고 β -endorphin이 ε -부분과의 결합을 통해 나타내는 진통작용을 강하게 차단한다. 따라서, Fig. 6에서 보는 것처럼 ε -결합부위의 자극에 의한 진통효과는 방사선조사에 의해 더욱 증가되었으나 낮은 진통효과를 보이는 β -endorphin₁₋₂₇의 부분적(경쟁적) 수용체 점유에 의해 방사선조사에 의해 증가된 β -endorphin의 진통효과가 감소한 것으로 보인다. 따라서, morphine은 주로 μ -에 그리고 β -endorphin과 β -endorphin₁₋₂₇은 μ -와 ε - 모두에 결합하나 β -endorphin₁₋₂₇은 ε -결합부위에서 β -endorphin의 차단제로 기능하며, 방사선조사는 μ -형 수용체의 자극에 의한 진통작용은 감소시키는 반면에 ε -형 수용체의 자극에 의한 진통효능은 오히려 증가시키는 것으로 추정할 수 있다.

요약하면, 전신방사선조사는 morphine, DAMGO, 그리고 부분적으로 β -endorphin이 결합하는 μ -형 수용체의 진통작용은 감소, β -endorphin이 주로 결합하는 ε -형 opioid 수용체의 효과는 증가, 그리고 DPDPE와 U50,488H가 각각 작용하는 δ -와 κ -형 수용체의 진통작용은 별다른 영향을 주지 못하였으며 이는 각각의 opioid 수용체들은 방사선조사에 대한 민감도가 서로 다를 수 있음을 시사한다.

감사의 글

본 연구는 강릉원주대학교 대학발전기금(2010) 지원으로 수행되었음.

참고 문헌

- Feinendegen LE. Evidence from beneficial low level radiation effects and radiation hormesis. *Br J Radiol.* 2005; 78:3-7.
- Mickley GA, Stevens KE, White GA, Gibbs GL. Changes in morphine self-administration after exposure to ionizing radiation: evidence for the involvement of endorphins. *Life Sci.* 1984;33:711-8.
- Teskey CC, Kavaliers M. Ionizing radiation induces opioid-mediated analgesia in male mice. *Life Sci.* 1984;35:1547-52.
- Raffa RB, Mathiasen JR, Brown DQ. μ -, but not δ -, opioid receptor-mediated antinociception in mice is attenuated by γ -irradiation. *Brain Res.* 1988;447(2):393-7.
- Contet C, Matifas A, Kieffer BL. No evidence for G-protein-coupled epsilon receptor in the brain of triple opioid receptor knockout mouse. *Eur J Pharmacol.* 2004;492:131-6.
- Jung JS, Song DK, Suh HW, Kim YH. Effects of intraventricular injection of morphine and beta-endorphin on serotonin release from the spinal cord in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 1994;49(4):1037-424.
- Suh HH, Fujimoto JM, Tseng LF. Differential mechanisms mediating beta-endorphin- and morphine-induced analgesia in mice. *Eur J Pharmacol.* 1989;168(1):61-70.
- Chung KM, Suh HW. Pretreatment with cholera or pertussis toxin differentially modulates morphine- and beta-endorphin-induced antinociception in the mouse formalin test. *Neuropeptides.* 2001;35(5-6):197-203.
- Narita M, Tseng LF. Evidence for the existence of the β -endorphin-sensitive "epsilon opioid receptor" in the brain: the mechanisms of epsilon-mediated antinociception. *Jpn J Pharmacol.* 1998;76:233-53.
- Tseng LF. Evidence for epsilon opioid receptor-mediated β -endorphin-induced analgesia. *Trends Pharmacol Sci.* 2001; 22: 623-30.
- Seo YG, Kwon MS, Choi HW, Jang JE, Lee JK, Jung JS, Park SH, Suh HW. The differential effect of morphine and beta-endorphin administered intracerebroventricularly on pERK and pCaMK-II expression induced by various nociceptive stimuli in mice brains. *Neuropeptides.* 2008; 42(3):319-30.
- Mizoguchi H, Narita M, Nagase H, Tseng LF. Activation of G-proteins in the mouse pons/medulla by β -endorphin is mediated by the stimulation of μ - and putative ε -receptors. *Life Sci.* 2000;67:2733-43.
- Kim DK, Kim CS, Kim HJ, Kook JK, Kim SH, Lee BH, Lee YH, Mo SY, Loh HH. The effect of morphine on rest expression in human neuroblastoma NMB cells. *Int J Oral Biol.* 2010;35(2):69-74.
- Kim KN, Chung KM. The differential effect of whole-body irradiation on morphine- and β -endorphin-induced antinociceptive actions in mice. *Int J Oral Biol.* 2009;34(3): 137-42.
- Chung KM, Jung YK, Jeong HY, Kim KN. Differential involvement of glutathione in morphine and β -endorphin induced antinociception in male ICR mice. *Int J Oral Biol.* 2003;28(2):33-7.
- Ben-Bassat J, Peretz E, Sulman FG. Analgesimetry and ranking of analgesic drugs by the receptacle method. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 1959;122:434-47.
- Haley TJ, McCormick WG. Pharmacological effect of produced by intracerebral injections of drugs in the conscious mouse. *Br J Pharmacol.* 1957;12:12-5.
- Hong M, Sutak M, Jhamandas K. Inhibition of spinal opioid antinociception by intrathecal β -endorphin₁₋₂₇ in

- the rat. *Br J Pharmacol.* 1993;108:1137-42.
19. Ju JS, Choi HS, Lee HJ, Jung CY, Lee KR, Bae YC, Ahn DK. Microinjection of DAMGO but not DPDPE or U50488 into the central nucleus of amygdala suppressed nociceptive jaw opening reflex in freely moving rats. *Int J Oral Biol.* 2004; 29(2):45-9.
 20. Wüster M, Schulz R, Herz A. Specificity of opioids towards the mu, delta and epsilon opiate receptors. *Neurosci Lett.* 1979;15:193-8.
 21. Mizoguchi H, Wu HE, Narita M, Hall FS, Sora I, Uhl GR, Nagase H, Tseng LF. Antagonistic property of buprenorphine for putative epsilon opioid receptor-mediated G-protein activation by β -endorphin in pons/medulla of the mu opioid receptor knockout mouse. *Neuroscience.* 2002;115:715-21.
 22. Gilmore W, Weiner LP. The opioid specificity of β -endorphin enhancement of murine lymphocyte proliferation. *Immunopharmacology* 1989;17:19-30.
 23. George SR, Fan T, Xie Z, Tse R, Tam V, Varghese G, O'Dowd BF. Oligomerization of mu and delta opioid receptors. Generation of novel functional properties. *J Biol Chem.* 2000;275:26128-35.
 24. Katanyutanon S, Wu R, Wang P. The effect of whole-body radiation on blood levels of gastrointestinal peptides in the rat. *Int J Clin Exp Med.* 2008;1:332-7.