

쥐의 신경병증성 통증 모델에서 아미카신의 진통효과

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 마취과, *서울대학교 치과대학 치과마취학교실

윤 태 균 · 김 현 정* · 염 광 원*

= Abstract =

Antinociceptive Effects of Amikacin on Neuropathic Pain in Rats

Tae Gyoon Yoon, M.D., Hyun Jeong Kim, M.D.*, and Kwang Won Yum, M.D.*

Department of Anesthesiology, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, *Department of Dental Anesthesiology, Seoul National University College of Dentistry, Seoul, Korea

Background: Recently, aminoglycoside antibiotics such as gentamicin, neomycin and amikacin have been known to have antinociceptive effects on several pain models in rats and mice, in addition to their antibacterial activities. However, there has been no report concerning aminoglycoside's antinociceptive effects on neuropathic pain. The present study was undertaken to assess the antinociceptive action of amikacin and also to investigate a possible antinociceptive mechanisms through the use of antagonists in an neuropathic pain models in rats.

Methods: Rats were prepared with tight ligation at the left 5th and 6th lumbar spinal nerves (according to Kim and Chung's neuropathic pain model). The antinociceptive effects of amikacin (1, 10, and 100 mg/kg i.p.) in rats with neuropathic pain were assessed. In addition, after co-administration of naloxone (1 mg/kg i.p.) with 10 mg/kg of amikacin, the responses to mechanical stimulus were measured over two hours.

Results: The antinociceptive effects shown by amikacin on neuropathic pain were significant ($P < 0.05$), but were inhibited by co-administered naloxone in rats with mechanical allodynia.

Conclusions: Amikacin showed significant antinociceptive effects in rats with neuropathic pain against mechanical allodynia. The antinociceptive effect on the mechanical stimuli was mediated through the opioid receptor.

Key Words: Amikacin, Analgesic, Naloxone, Neuropathy, Rat

서 론

책임저자 : 김현정, 서울시 종로구 연건동 28
서울대학교 치과대학 치과마취학교실
우편번호: 110-744
Tel: 760-3042, Fax: 766-9427
E-mail: dentane@plaza.snu.ac.kr

본 연구는 서울대학교병원 일반학술연구비(00-3-3-55) 지원으로 수행되었음.

외상이나 염증, 허혈성 손상 또는 대사산물에 신경이 노출되었을 때, 신경병증성 통증이 발생할 수 있다. 신경병증성 통증은 자발통, 이질통 및 통각과민을 특징으로 하며, 난치성 통증 질환의 하나이다.

Streptomycin, gentamicin, amikacin 등의 아미노배당

체(aminoglycoside) 항생제들은 고유의 약리학적 작용 외에도 감각신경에서 막전위의 과분극을 유도하여 흥분성을 저하시켜, 신경 접합부에서의 전달과 신경 전달물질의 유리를 억제하고,¹⁾ 통증 유발과 관련 있는 칼슘 이온의 전도를 방해하는 것으로 알려져 있다.^{2,3)} 최근에는 gentamicin, kanamycin 및 neomycin 등이 hot plate 및 tail flick test에서 진통효과가 있는 것으로 알려져 있다.⁴⁾ 또한 쥐에서 carrageenan으로 유도한 급성 염증 및 초산으로 유도된 writhing test에서도⁵⁾ 진통효과가 있는 것으로 알려져 있다. 그러나 아직까지는 신경병증성 통증에서 아미노배당체의 진통 작용은 알려진 바가 없다.

따라서, 본 연구에서는 쥐의 신경병증성 통증 모델에서 아미카신의 진통효과를 확인하고, 아편양 수용기 길항제인 날록손을 아미카신과 동시에 투여하여 아미카신의 진통기전을 규명하고자 하였다.

대상 및 방법

이 연구를 위한 동물실험은 세계통증연구학회(International Association for the Study of Pain)의 윤리 규정에 의하여 시행되었다.

실험동물은 초기 체중 150-200 g의 웅성 Sprague-Dawley 쥐를 대상으로 12시간의 광주기성을 유지하며, 4-5마리씩 짝집이 있는 통에 사육하였다. 통증 행동 검사는 일정 온도(20-24°C) 및 일정 습도(40-60%)를 유지한 환경에서 일정 시간(오전 10시-오후 5시)에 시행하였다.

기계적 자극에 대한 통증회피반응은 철망 위에 놓인 통(8 × 8 × 18 cm) 속에 대상 쥐를 넣고, 30분

동안 안정시킨 후 측정하였다. 통증 행동 검사 전 보정된 von Frey 필라멘트들(0.41, 0.70, 1.20, 2.00, 3.63, 5.50, 8.50, 및 15.14 g) 중 2.00 g부터 시작하여 up & down 방법으로⁶⁾ 철망 사이를 통해 발바닥에 자극을 가한 후 50% 회피 역치를 측정하였다.

Kim과 Chung의 방법을 이용하여⁷⁾ 신경병증성 통증 모델을 제작하였다. 신경결찰 전 1주일 동안 3회 시행한 통증행동검사에서 3회 모두 통증회피반응을 보이지 않은 쥐들을 대상으로 Halothane (2-3 Vol%) 흡입마취 하에 척추의 정중선을 절개한 다음 제5 및 6번 요척수 신경을 노출하고 5-0 실크 봉합사로 단단히 결찰하였다. 생리식염수로 관주하고, 지혈한 후 근육과 피부를 다시 봉합하였다. 모델제작 후 1, 4, 7, 및 14일에 통증 반응 검사를 시행하여 통증이 확실히 발생한 쥐들을 대상으로 약물을 투여하였다.

아미카신(Yuhan, Korea)과 아편양 수용기에 대한 길항제인 날록손(Sigma, USA)은 생리식염수로 최종 용량이 1.5 ml이 되게 준비하였다. 아미카신의 진통효과를 측정하기 위하여 복강내 주사(1, 10, 및 100 mg/kg)하였다. 또한 아미카신의 수용기에 대한 진통효과를 보기 위하여 1 mg/kg의 날록손을 아미카신(10 mg/kg)과 함께 복강 내에 각각 투여하였다. 통증 반응의 변화는 약물 투여 전과 투여 후 30, 60 및 120분 경과 후에 von Frey 필라멘트들을 이용한 기계적 자극에 대한 통증회피반응을 측정하였다.

모든 수치는 평균 ± 표준오차로 표시했으며, 통증 행동 반응의 변화는 약물 투여 전의 수치에 대한 비율(%change)로 환산하여 나타내었다. 시간 경과에 따른 통증 반응의 변화는 Friedman two-way ANOVA (SPSS ver 10.0, USA)를, 용량에 따른 차이는 Kruskal-

Table 1. Antinociceptive Effects of Amikacin on the Mechanical Allodynia in Rats

	n	Pre	30 min	60 min	120 min
Normal saline	9	1.83 ± 0.36	2.39 ± 0.62	2.15 ± 0.35	2.88 ± 0.69
1 mg/kg of A	9	1.63 ± 0.24	3.26 ± 0.66	3.78 ± 0.52	4.21 ± 0.71*
10 mg/kg of A	9	1.66 ± 0.49	5.01 ± 0.62*	6.16 ± 1.19*	9.12 ± 1.10*
100 mg/kg of A	9	1.76 ± 0.31	2.97 ± 0.86	3.92 ± 0.69	6.03 ± 1.21*
Naloxone	6	2.08 ± 2.30	2.33 ± 0.36	3.94 ± 1.09	3.83 ± 0.65
Naloxone + A	6	1.96 ± 0.34	1.87 ± 0.48	4.51 ± 1.01	3.53 ± 1.16

Data were expressed as mean ± SE. (unit: g)

A: Amikacin, *P < 0.05 compared to pre-value.

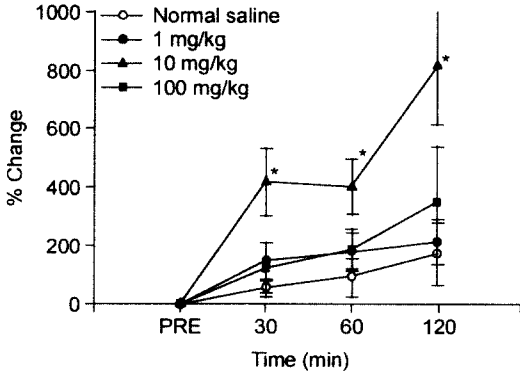


Fig. 1. Analgesic effect of intraperitoneal injection of amikacin on the mechanical allodynia in rats with neuropathic pain. The group received amikacin 10 mg/kg showed significant analgesic effect on the mechanical allodynia compared to the other groups at 30, 60, and 120 min (*P < 0.05).

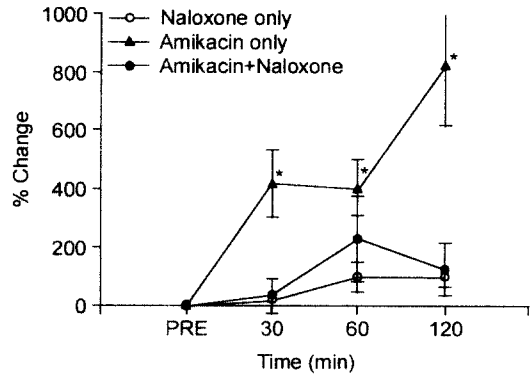


Fig. 2. Antagonistic effect of naloxone against the analgesic effect of amikacin on the mechanical allodynia in rat with neuropathic pain. The group received naloxone only or amikacin with naloxone showed significant antagonistic effects on the amikacin-induced analgesia compared to only amikacin-treated group (*P < 0.05).

Wallis one-way ANOVA를 이용하였다. P 값이 0.05 미만인 경우를 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

기계적 이질통에 대한 아미카신의 진통효과는 용량 증가에 따라 증가하는 경향을 보였고, 1, 10, 100 mg/kg의 용량에서 투여 전에 비하여 각각 120분, 30분에서 120분, 120분에서 유의한 진통효과를 보였다 (Table 1, 각각 P = 0.023, P < 0.001, P = 0.013). 또한 약물 투여 전의 역치에 대한 비율(%change)을 비교하면, 아미카신 10 mg/kg의 용량에서 생리식염수 투여군에 비하여 약물 투여, 30, 60, 130분에서 유의한 진통작용을 관찰할 수 있었다(Fig. 1, 각각 P = 0.003, P = 0.006, P = 0.005). 날룩손을 아미카신과 같이 투여한 경우 기계적 이질통에 대한 아미카신의 진통작용은 소실되었다(Fig. 2). 한편, 날룩손만을 신경병증성 통증을 지닌 쥐에게 투여하였을 때, 통증의 역치는 시간경과에 따라 증가하는 경향을 보였으나, 시간 경과에 따른 통증 역치의 변화는 통계적으로 유의하지 않았다(Fig. 2, P = 0.129).

고 찰

신경병증성 통증은 만성 통증 중에서 기존의 여러

진통에 관여되는 치료 약물들에 대한 치료성적이 저조한 대표적인 난치성 통증이다. 임상적으로 통상적인 진통제인 비스테로이드계 항염증제나 아편양 제제에 의한 치료효과가 적어 삼환계 우울제 등의 여러 약물들이 사용되나, 이들에 대한 반응이 환자 개인에 따라 다르고, 기존의 약물에 치료효과가 저조한 환자들도 많아 계속적으로 신경병증성 통증에 효과적인 여러 약물들이 연구되고 있다.

최근에는 gentamicin, kanamycin 및 neomycin 등의 아미노배당체 항생제들이 hot plate 및 tail flick test, carrageenan으로 유도한 급성 염증 및 초산으로 유도된 writhing test 등에서 탁월한 진통효과가 있음이 보고되었다.^{4,5,8-11)}

본 연구에서 아미카신은 쥐의 말초신경 손상 후에 발생한 기계적 이질통에서 유의한 진통효과를 보였다. 이러한 진통 효과는 10 mg/kg 용량의 아미카신에서 그 효과가 최대화되었으므로, 신경병증성 통증에 아미카신이 미치는 영향은 용량에 의존하여 효과가 증가된다(concentration-dependent manner)고 할 수 없는 소견이다. 한편, 이는 아미노배당체 항생제들의 가장 큰 부작용들인 이독성과 신독성은 사용용량이 증가할수록 발현빈도가 증가한다는 사실을 생각할 때, 임상적으로 중요한 의미를 가지리라 생각된다.

본 연구에서는 아미카신의 진통 기전을 규명하기 위하여 날룩손을 아미카신과 같이 투여하여 그 진통 양상의 변화를 관찰하였다. 날룩손이 통증의 전달에 미치는 효과는 실험동물의 제통과 가해진 통증의 종류에 따라 다양하다. 즉 통증을 증가시키거나, 통증 양상에 별다른 영향을 미치지 않거나 또는 진통효과가 있다는 동물실험 결과가 보고되고 있다.¹²⁻¹⁵⁾ 본 연구에 사용된 날룩손의 농도는 길항 효과를 보여주었던 기존의 여러 연구 결과들에서 참조하여 선택되었고,¹⁶⁾ 신경병증성 통증이 있는 쥐들에서 1 mg/kg 용량의 날룩손 단독 투여에서 기계적 이질통의 50g 역치에 변화가 유의하지 않음을 확인한 후 실험하였다. 날룩손과 같이 투여된 아미카신의 농도는 진통 효과 실험에서 가장 효과적인 용량인 10 mg/kg로 결정하였다.

일반적으로 아편양 약제들은 신경병증성 통증에 효과가 좋지 않은 것으로 알려져 있으나, 이에 대한 반론들이 여러 논문들에서 제기되고 있다.^{17,18)} 최근 Nam 등은¹⁹⁾ 저빈도, 고강도의 전기자극에 의해 분비되는 내인성 아편양 제제에 의하여 진통효과를 보이는 기계적 이질통에 날룩손이 길항 효과를 보였음을 보고하였다. 이는 신경병증성 통증에도 아편양제제들이 효과적일 수도 있음을 시사한다. 본 실험에서 기계적 이질통에 대한 아미카신의 진통효과는 같이 투여된 날룩손에 의하여 차단되어, 기계적 자극에 대한 통증은 아편양 μ 수용기에 의해 매개됨을 알 수 있었다.

한편, 칼슘 이온이 진통작용에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 즉 세포에서의 칼슘의 이용도가 감소하면 진통효과가 있고,²⁰⁾ 신경병증성 통증에서 L과 N형 칼슘 통로(N- and L-type voltage-dependent calcium channel) 차단제는 척수후각(dorsal horn)에서 통증을 감소시켰다.²⁾ 아미노배당체 항생제들은 칼슘 통로 차단효과가 있는데,^{5,21)} N형 칼슘 통로 차단효과는 neomycin이 gentamycin이나 kanamycin에 비하여 우수하므로, hot plate test 및 tail-flick test에서 진통작용이 가장 강력하였다.⁴⁾ 따라서 신경병증성 통증에는 아편양 수용기 외에도 칼슘 통로가 관여할 것으로 생각되며, 추후 아미노배당체 항생제들이 신경병증성 통증에 미치는 영향을 칼슘통로와 관련하여 연구할 필요가 있으리라 생각된다.

결론적으로 말초신경 손상 후, 신경병증성 통증이

발생된 쥐들에서 아미카신은 기계적 이질통에 유의한 진통효과를 보였으며, 이는 아편양 수용기에 기인한 것으로 생각된다. 따라서 본 연구결과는 향후 아미카신이 신경손상에 기인한 신경병증성 통증의 기계적 이질통에서 효과적인 치료제로 사용될 수 있음을 시사하고 있다.

참 고 문 헌

1. Nation PN, Roth SH: The effects of neomycin on membrane properties and discharge activity of an isolated sensory neuron. *Can J Physiol Pharmacol* 1988; 66: 27-31.
2. Matthews EA, Dickenson AH: Effects of spinally delivered N- and P-type voltage-dependent calcium channel antagonists on dorsal horn neuronal responses in a rat model of neuropathy. *Pain* 2001; 92: 235-46.
3. Atchison WD, Adgate L, Beaman CM: Effects of antibiotics on uptake of calcium into isolated nerve terminals. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 245: 394-401.
4. Ocana M, Baeyens JM: Analgesic effects of centrally administered aminoglycoside antibiotics in mice. *Neurosci Lett* 1991; 126: 67-70.
5. Dogrul A, Yesilyurt O: Effects of intrathecally administered aminoglycoside antibiotics, calcium-channel blockers, nickel and calcium on acetic acid-induced writhing test in mice. *Gen Pharmacol* 1998; 30: 613-6.
6. Dixon WJ: Efficient analysis of experimental observations. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1980; 20: 441-62.
7. Kim SH, Chung JM: An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 1992; 50: 355-63.
8. Prado WA, Tonussi CR, Rego EM, Corrado AP: Antinociception induced by intraperitoneal injection of gentamicin in rats and mice. *Pain* 1990; 41: 365-71.
9. Rego EM, Corrado AP, Prado WA: Antinociception induced by intracerebroventricular or intrathecal administration of gentamicin in rats. *Gen Pharmacol* 1992; 23: 481-5.
10. Atamer-Simsek S, Olmez-Salvarli H, Guc O, Eroglu L: Antinociceptive effect of amikacin and its interaction with morphine and naloxone. *Parmacol Res* 2000; 41: 355-60.
11. Dogrul A, Yesilyurt O, Isimer A: Effects of neomycin on the development of tolerance to morphine antinociception. *Life Sci* 2001; 69: 2081-90.
12. Vaccarino AL, Tasker RA, Melzack R: Systemic ad-

- ministration of naloxone produces analgesia in BALB/c mice in the formalin pain test. *Neurosci Lett* 1988; 84: 103-7.
13. Attal N, Kayser V, Jazat F, Guilbaud G: Behavioural evidence for a bidirectional effect of systemic naloxone in a model of experimental neuropathy in the rat. *Brain Res* 1989; 494: 276-84.
 14. Vaccarino AL, Plamondon H, Melzack R: Analgesic and aversive effects of naloxone in BALB/c mice. *Exp Neurol* 1992; 117: 216-8.
 15. Kayser V, Guilbaud G: Dose-dependent analgesic and hyperalgesic effects of systemic naloxone in arthritic rats. *Brain Res* 1981; 226: 344-8.
 16. 송경화, 김현정, 염광원: 쥐의 신경병증성 통증 모델에서 트라마돌의 진통효과. *대한통증학회지* 1998; 11: 150-5.
 17. DelleMijn P: Are opioids effective in relieving neuropathic pain? *Pain* 1999; 80: 453-62.
 18. Kontinen VK, Paananen S, Kalso E: Systemic morphine in the prevention of allodynia in the rat spinal nerve ligation model of neuropathic pain. *Eur J Pain* 1998; 2: 35-42.
 19. Nam TS, Choi Y, Yeon DS, Leem JW, Paik KS: Differential antinociceptive effect of transcutaneous electrical stimulation on pain behavior sensitive or insensitive to phentolamine in neuropathic rats. *Neurosci Lett* 2001; 301: 17-20.
 20. Chapman DB, Way EL: Metal ion interactions with opiates. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1980; 20: 553-79.
 21. Robles I, Barrios M, Baeyens JM: Centrally administered aminoglycoside antibiotics antagonize naloxone-precipitated withdrawal in mice acutely dependent on morphine. *Neurosci Lett* 1992; 145: 189-92.
-