

## 고 트립토판 식이를 섭취한 마우스에서 Immobilization 스트레스로 인한 면역변조와 Serotonin 대사의 변화에 대한 연구

서 경 원 · 김 해 리  
서울대학교 식품영양학과

A Study on Immunomodulation and Serotonin Metabolism Changes by  
Immobilization Stress in Mice Fed Tryptophan Supplemented Diet

Suh, Kyung-One · Kim, Harriet

*Department of Food and Nutrition, Seoul National University, Seoul, Korea*

### ABSTRACT

We fed high tryptophan diet(3.5% tryptophan/diet(w/w)) to mice for 7 days and treated them with 3 hour immobilization(IMMB) stress to investigate tryptophan metabolism and immunomodulation. The levels of serum tryptophan, brain tryptophan, serotonin(5HT) and 5-hydroxyindoleacetic acid(5HIAA) in the tryptophan diet fed animals were higher than those of the normal diet fed animals. Feeding tryptophan supplemented diet to stressed animal significantly decreased the levels of serum and brain tryptophan and 5HT levels. However, the amount of 5HIAA which is the metabolite of serotonin was increased in brain. Plasma corticosterone level was increased by the stress in both groups but the degree of this increase was smaller in high tryptophan fed animals. The relative numbers of CD8<sup>+</sup> T cells, CD4<sup>+</sup> T cells and B cells in spleen were decreased in high tryptophan diet fed and stressed animals compared to control diet fed and no stressed animals. CD8<sup>+</sup> T cells decreased more than CD4<sup>+</sup> T cells. The decrease of CD8<sup>+</sup> T cells in high tryptophan fed and stressed animals was similar to that in high tryptophan fed animals or normal diet fed and stressed animals. Stress and tryptophan supplement acted synergistically to decrease the number of B cells. This study suggests that stress and tryptophan supplement could modify the number of lymphocyte cells, and indicates that the interaction of stress and tryptophan supplement on immune function depends on the types of immune cells.

KEY WORDS : high tryptophan diet · stress · serotonin · corticosterone · immunomodulation  
· CD4<sup>+</sup> T cell · CD8<sup>+</sup> T cell · B cell.

채택일 : 1994년 1월 19일

## 서 론

## 재료 및 방법

스트레스는 강압적인 요구나 불쾌한 상황에 대한 신체의 비특이적인 반응(nonspecific response)으로 생체는 이에 대응하거나 적응하기 위해 다양한 생리적 변화를 일으킨다<sup>1)</sup>. 이 중 일관성있는 변화는 교감신경계와<sup>2)</sup> 시상하부-뇌하수체-부신피질계(Hypothalamus-Pituitary-Adrenal Cortical Axis: 이하 HYPAC 축이라 함)의 활성화이다<sup>3)</sup>. 스트레스가 면역체계나 면역반응에 영향을 준다는 사실은 이미 보고된 바 있다<sup>4)5)</sup>. 스트레스는 면역반응 전반에 걸쳐 저해작용을 하는데, 항원에 대한 항체 생성 저하<sup>6)</sup>, LPS와 Con A같은 mitogen의 B세포, T세포 분열작용 억제, T세포 subpopulation의 분포 변화<sup>7)</sup> 등을 일으킨다. 이 기작은 정확히 알려지지 않으나, 스트레스를 받을 때 HYPAC 축을 통해 분비가 촉진되는 corticosterone, catecholamine, enkephaline 등이 직접적으로 면역반응을 저해하는 작용이 있다는 사실과 림프구와 단핵구에 호르몬과 신경전달물질 수용체가 있음을 발견되어, HYPAC 축이 이와 관련되어 있다고 추측하고 있다<sup>8)9)</sup>.

Serotonin은 트립토판에서 전환되는 신경 전달 물질로, 그 주요기능중 하나는 HYPAC 축에 관계하여, 스트레스로 촉진되는 분비물질을 억제하는 작용을 하여 스트레스를 받을 때 생기는 생화학, 생리학적 현상들을 완화하는 것이다<sup>10-14)</sup>. 또 serotonin은 직접적으로 면역계에 저해작용을 한다고 보고되고 있다<sup>15-18)</sup>. 이것은 serotonin이 스트레스 완화로 인해 예상되는 면역반응 저해 작용의 감소와는 상반된 결과이다.

본 연구는 식이내 트립토판 양을 증가하였을 때, serotonin의 증가로 인한 스트레스 완화에 따른 면역반응 억제의 감소 또 serotonin 자체의 면역 반응의 억제 작용이 어떻게 상호작용을 하는지 살펴보고 식이내 트립토판이 면역반응과 스트레스에 어떤 영향을 미칠 것인가를 알아보려고 실시하였다.

## 1. 시약 및 기구

Anti-B antibody, anti-L3T4 antibody, anti-T<sub>S/C</sub> 세포 antibody는 ATCC(American Type Culture Collection)에서 구입한 hybridoma를 배양한 세포의 supernatant를 한국 과학 기술원 유전공학 연구소에서 공급받았으며, goat rat Ig serum FITC conjugated는 Tago Immunologicals Co. 제품(USA)을 사용하였으며 L-tryptophan, 5-hydroxytryptamine, 5-hydroxyindolacetic acid, 17-hydroxycorticosterone은 Sigma Co. 제품(USA)을 구입하였으며, 1, 2, 6, 7-<sup>3</sup>[H] corticosterone은 Amersham Co.(USA)에서 구입하였고, rabbit anti-corticosterone-3CMO-BSA는 본 실험실에서 만든 것을 사용하였다. 그 외의 시약은 모두 특급시약을 사용하였다.

## 2. 실험 동물의 사육

이유한 C57BL/6종 생쥐 8~10g된 것을 서울대학교 실험동물 사육장으로부터 공급받아 생후 7주까지 일반 고형사료를 먹이면서 사육하였다. 그후 정상식이군과 고 트립토판 식이군으로 각 실험식이로 7일간 사육하였다. 이때 온도 20~25°C, 명암주기는 12시간 간격(08:00~20:00)으로 유지하였으며 물과 식이는 자유로이 섭취하도록 하였다.

## 3. 실험식이

고 트립토판 식이의 트립토판 수준은 식이의 3.5%로 하였고 정상식이와 총 열량 섭취를 같게하기 위해 옥수수 전분을 3g/100g diet를 감소시켰다(Table 1). 이들은 냉동 보관하였다가 공급하였고 매일 섭취량을 측정하였다.

## 4. 시료의 수집

정상식이군과 고 트립토판 식이군을 각각 정상군, 스트레스 처리군으로 나누어 시료를 수집하였다(n=7~8). 정상군은 12시간 금식후 3시간 동안 조용한 환경에서 쉬게한 후 decapitation 방법으로

회생시켰고 스트레스 처리군은 반지름 1.5cm, 길이 7cm의 병안에 직립으로 서 있게 하는 immobilization 스트레스를 3시간 동안 받게한 후 곧 decapitation 방법으로 회생시켰다. 이들은 11:00~13:00 사이에 모두 회생시켰고 회생후 즉시 간과 뇌를 적출하여 -70°C 냉동고에 보관하였다가 분석에 이용하였고, 혈액은 혈청을 분리한 후 냉동 보관하여 사용하였다. 비장은 적출후 무게를 잰 후 냉장 보관하였다가 24시간 이내 분석에 이용하였다.

5. 실험 방법

1) Helper T세포, suppressor/cytotoxic T세포, total B세포 측정

비장은 갈아 PBS로 균질화시켜 세척한 후 세포의 수를 대략 1~2×10<sup>7</sup> cells/ml로 조정했다. 이를 각각 negative control인 rat serum, anti-mouse B monoclonal antibody, anti-mouse T(CD4) monoclonal antibody, anti-mouse T(CD8) monoclonal antibody와 반응시키고 결합하지 않은 항체를 제거한 후 2차 항체인 goat anti-rat Ig-FITC와 반응시킨 후 FACS-can(Becton-Dickinson, USA)를 사용하여 분석했다.

Table 1. Seven dietary groups with two levels of cholesterol and three types of milk in diets

Ingredients	Control diet	High trp diet
Corn starch	65.0	62.0
Casein	15.0	15.0
Cellulose	10.0	10.0
Salt mixture <sup>1)</sup>	5.0	5.0
Vitamin mixture <sup>2)</sup>	4.0	4.0
D.L-Methionine	0.2	0.2
Tryptophan	—	3.5

1) Composition of salt mixture, g/kg mixture : Ca-HPO<sub>4</sub> 500g ; NaCl 74g ; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 52g ; C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>K<sub>3</sub>O<sub>7</sub> · H<sub>2</sub>O 220g ; MgO 24g ; CMnO<sub>3</sub> 3.5g ; C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>FeO<sub>7</sub> 6.0g ; CO<sub>3</sub>Zn 1.6g ; CH<sub>2</sub>Cu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0.3g ; KIO<sub>3</sub> 0.01g ; CrK<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub> 0.55g ; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0.01g ; Sucrose, finely powdered 118.0g.

2) Vitamin A(200,000 units/g) 4.5g ; Vitamin D (400,000 units/g) 0.25g ; α-Tocopherol 5.0g ; Ascorbic acid 45.0g ; Inositol 5.0g ; Riboflavin 1.0g ; Thiamin hydrochloride 1.0g ; Calcium pantothenate 3.0g ; Biotin 0.02g ; Folic acid 0.09g ; Vitamin B<sub>12</sub> 0.00135g and Starch to 1kg.

각 세포 부유액은 argon-laser(Spectra Physics 2020, USA) fluorescence excitation 488nm, emission 585 nm에서 분석되었다. Nozzle tip의 직경은 70μm였으며, LYSIS™ II program 상에서 각각의 histogram당 1만개의 세포를 분석하였으며, 적혈구와 죽은 세포는 Gate로 제거하였다.

2) Tryptophan 함량 측정

Duggan<sup>19)</sup>과 Denkla와 Dewey<sup>20)</sup> 방법을 변형하여 사용하였다. 뇌는 냉각된 0.9% saline 용액으로 균질화한 후 10,000g에서 10분 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 여기에 75% trichloroacetic acid 용액으로 1:1 비율로 섞은 후 10분 동안 방치하고 20,000g에서 10분 동안 원심분리하였다. 균질액 또는 혈장을 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/NaO<sub>4</sub>W로 단백질을 제거하고 2M sodium carbonate 0.5ml를 넣어 원심분리하여 상층액을 Spectrofluorometer(KONTRON)으로 activation 280nm, emission 360nm에서 형광도를 측정하였다.

3) Serotonin 함량 측정

Curson<sup>21)</sup> 방법에 의해 측정하였다. 뇌를 cold acidified n-butanol로 10배 희석하여 균질화한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상층액에 n-heptane과 0.1N HCl(0.1% cystein 함유)을 넣어 강렬히 교반후 원심분리하고 그 수용액(이하 A solution 이라 함)층에 0.004% o-phthaldehyde(OPT) 용액을 넣고 5분 동안 교반하였다. 15분간 끓인 후 찬물로 냉각시켜 Spectrofluorometer로 activation 360m, emission 470nm에서 측정하였다.

4) 5-Hydroxyindoleacetic acid 함량 측정

Duggan<sup>19)</sup>의 방법을 변형하여 측정하였다. Serotonin 측정에서 만들어 놓은 A solution에 2, 3-dinitrophenyl hydrazine reagent를 2ml 넣고 30분 동안 방치하였다. 그후 CHCl<sub>3</sub>로 반복하여 유기성분을 제거하고 NaCl 4g과 ethyl ether 25ml을 넣고 5분간 교반후 3,000rpm에서 10분간 원심분리하였다. 수용액층을 1ml 취해 0.5ml nitrosophthal reagent를 넣고 nitrous acid 용액 0.5ml를 첨가한 후 37°C, 5분간 반응한 후 냉각시켰다. Ethyl acetate로 유기

측을 반복하여 분액추출하고 수용액 층을 분리하여 Spectrophotometer(HITACHI)로 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

5) Corticosterone 함량 측정

혈장 100 $\mu$ l와 petroleum ether 1ml를 격렬히 반응시킨 후 수용액층을 제거하였다. Ether층을 증발시키고 인산 완충액 0.5ml를 넣고 2분 이상 교반한 다음 이 용액 10 $\mu$ l에 rabbit anti-corticosterone hemisuccinate-BSA sera와 반응한 후 1, 2, 6, 7-<sup>3</sup>[H] corticosterone(0.15 $\mu$ Ci) 10 $\mu$ l를 넣고 4°C에서 12시간 방치한다. Dextran-coated charcoal을 200 $\mu$ l씩 넣고 잘 교반한 다음 2,000rpm에서 10분간 원심분리시켜 상층액에 scintillation 용액 4ml를 넣은 후 liquid scintillation counter(mini $\alpha$ ix $\beta$  Tri-carb 4000 series, United Technologies Packard, USA)로 측정하였다.

6) 통계처리

각 실험군의 결과는 SPSS를 이용하여 평균 $\pm$ 표준편차로 나타내었으며, 각 실험군의 평균치간의 유의성을  $\alpha=0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검증하였다.

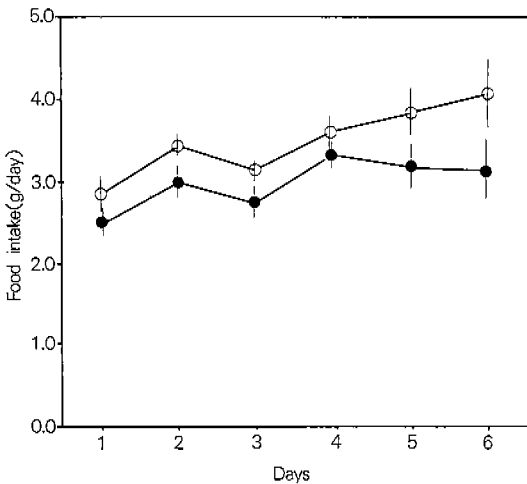


Fig. 1. Changes in food intake of high tryptophan fed animals (○ : Normal diet, ● : High tryptophan diet).

결과 및 고찰

1. 식이섭취량의 변화

7일간의 실험식이 섭취량은 정상식이군에 비해 트립토판 보강식이군이 약간 낮게 나타났지만 유의적인 차이는 없었다(Fig. 1). 트립토판 투여나 트립토판 보강 식이로 식이섭취량과 체중이 감소하였다는 보고가<sup>21)</sup> 있으나, 이는 장기간의 실험의 결과로 단기간 실시한 본 실험에서는 다소 낮은 섭취량으로 인한 스트레스나 면역계에 영향은 없는 것으로 판단된다.

2. 혈장내 트립토판 농도 변화

고 트립토판 식이를 섭취한 군이 정상식이군에 비해 혈장내 트립토판의 농도가 유의적으로 높게 나타났으며, 이것으로 트립토판은 혈액내 농도가 섭취한 식이내의 트립토판의 함량이 증가할수록 높아졌다는 것을 알 수 있다. 한편 정상식이군에서나 고 트립토판 식이군에서 스트레스를 받으면 혈장내 트립토판의 농도는 감소하였다(Table 2). 3시간의 immobilization 스트레스를 받은 경우, 정상식이군에서는 21%의 트립토판의 농도 감소를 보이고, 고 트립토판 식이군에서는 23.3%의 감소를 보였으며 이들 사이에는 유의적인 차이를 보였다(Fig. 2). 스트레스는 norepinephrine을 통한 혈액의 corticosterone의 증가로 tryptophan pyrrolase의 활성도를 증가시켜 혈액내 트립토판의 분해가 증가하고, 뇌로의 유입을 증가시켜 혈장내 트립토판의 농도가 감소된다고 제시된 바 있다<sup>22)23)</sup>.

3. 뇌의 트립토판, serotonin 및 5-HIAA의 농도 변화

뇌의 트립토판의 농도는 정상식이군에 비해 고 트립토판 식이군이 유의적으로 높게 나타났다(Table 2). 스트레스를 받은 정상식이군에서는 뇌의 트립토판 농도가 62%의 감소를 보이고 트립토판 보강식이군에서는 39.9%의 감소를 보였다. 그러나 스트레스를 받은 트립토판 보강식이군은 스트레스를 받지 않은 정상식이군과 유의적인 차이가 없

었다. Serotonin의 농도는 고 트립토판 식이군이 정상식이군에 비해 증가하였으며, 스트레스를 받으면 정상식이군과 고 트립토판 식이군은 각각 스트레스를 받지 않은 군에 비해 감소를 보이거나

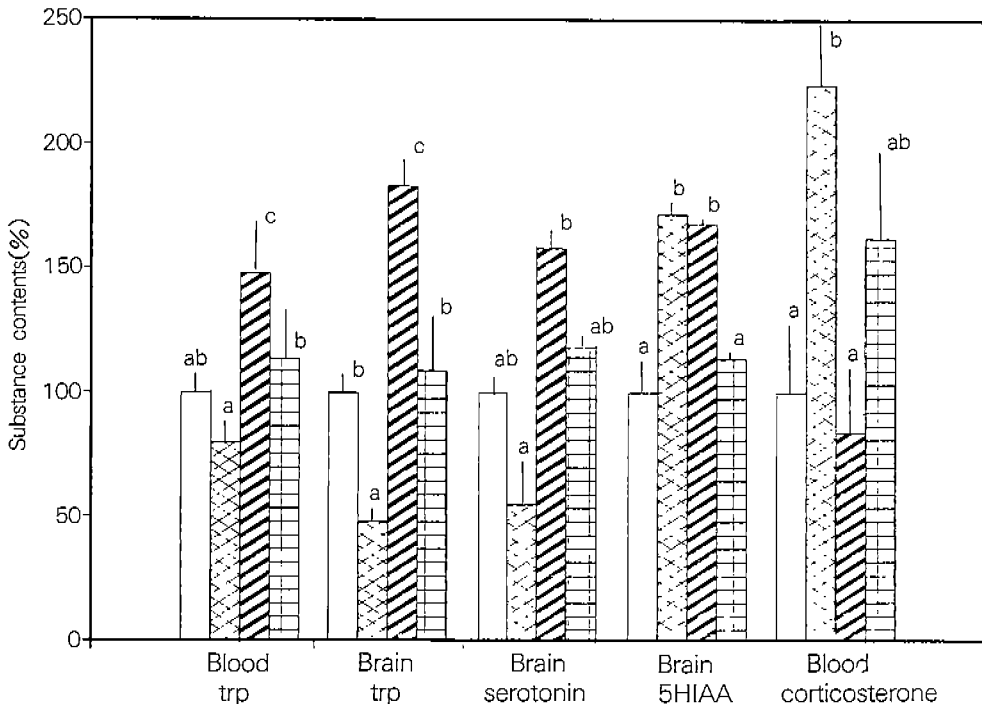
유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 2). 스트레스를 받은 군은 모두 5-HIAA의 농도가 증가하였고 트립토판을 보강한 식이군에서 정상식이군보다 5-HIAA의 농도가 높게 나타났다. 이것은 다른 보고

**Table 2.** Effects of immobilization stress and high tryptophan diet on the contents of tryptophan, serotonin, 5-Hydroxyindoleacetic acid(5HIAA) and corticosterone<sup>1</sup>

Parameters	Normal Diet		High Trp Diet	
	no stress	stress	no stress	stress
Blood Trp( $\mu\text{g/ml}$ )	14.5 $\pm$ 1.6 <sup>ab</sup>	11.6 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>	21.5 $\pm$ 2.2 <sup>c</sup>	16.5 $\pm$ 1.5 <sup>b</sup>
Brain Trp( $\mu\text{g/g}$ )	2.3 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	1.1 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	4.2 $\pm$ 0.5 <sup>c</sup>	2.5 $\pm$ 1.5 <sup>b</sup>
Brain serotonin( $\mu\text{g/g}$ )	0.62 $\pm$ 0.18 <sup>ab</sup>	0.34 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>	0.98 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	0.73 $\pm$ 0.14 <sup>ab</sup>
Brain 5HIAA( $\mu\text{g/g}$ )	0.22 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	0.38 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.37 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.25 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
Blood Corticosterone( $\mu\text{g/ml}$ )	2.42 $\pm$ 0.75 <sup>a</sup>	5.42 $\pm$ 0.40 <sup>b</sup>	2.04 $\pm$ 0.48 <sup>ab</sup>	3.93 $\pm$ 0.52 <sup>ab</sup>

1) Values are mean  $\pm$  S.D.

Means with different superscript letters within the same row are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.



**Fig. 2.** Mean percentages of various tryptophan metabolites and stress hormone in stressed and/or high tryptophan fed groups against normal diet and no stress group.

□ : normal diet and no stress, ▨ : normal diet and stress, ▩ : high tryptophan and no stress, ▨ : high tryptophan diet and stress.

Values sharing common letter were not significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

와도 일치하고 있으며<sup>24)25)</sup> serotonin 대사의 증가로 인해 나타나는 현상으로, 이 결과는 스트레스를 받아 serotonin의 이용이 증가하였다는 것을 보여 준다. 또한 스트레스를 받으면 뇌의 트립토판의 감소가 혈액의 트립토판 감소보다 큰 것을 볼 때 스트레스상황에서는 트립토판의 뇌로 적절히 유입되지 않음을 알 수 있다.

#### 4. 혈액내 corticosterone의 농도 변화

스트레스시 Norepinephrine은 감소하며 그 결과 Corticotropin releasing factor(CRF)의 분비가 촉진되고, 증가된 CRF는 다시 뇌하수체 전엽에서 ACTH의 분비를 촉진시키고 결국 ACTH는 부신 피질에서 corticosterone의 분비를 증가시킨다<sup>26)</sup>. 그러므로 이 corticosterone의 농도는 스트레스 지표로 사용된다.

본 실험에서 혈청내 corticosterone의 함량은 스트레스 처리에 의해 정상식이군에서는 정상군에 비해 유의적인 증가를 나타냈고 트립토판 보강식이군에서는 증가는 하였으나 유의적인 차이를 보이지는 않았다(Table 2). 이 증가폭은 정상식이군(128.1%)이 트립토판보강식이군(92.6%)보다 컸다(Fig. 2). 고 트립토판 식이군에서 corticosterone의 증가폭이 정상식이군에 비해 적은 것으로 보아 serotonin이 HYPAC 축에 관계하여 스트레스를 덜 느끼게 함을 간접적으로 알 수 있다.

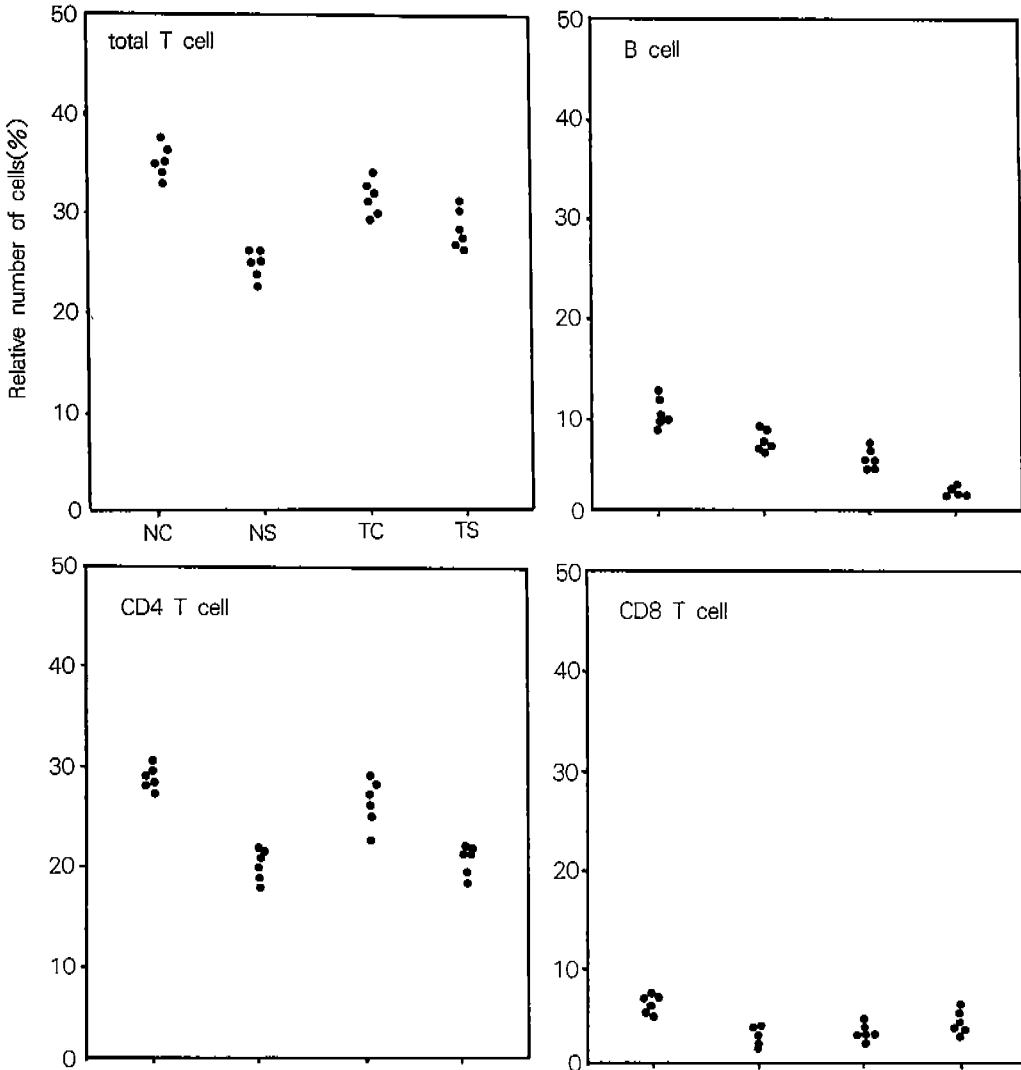
#### 5. Spleen의 총 T세포, CD4<sup>+</sup> T세포, CD8<sup>+</sup> T세포, B세포의 변화

트립토판 보강과 스트레스 처리에 의한 spleen의 총 T세포, CD4<sup>+</sup> T세포, CD8<sup>+</sup> T세포, B세포의 분포 변화를 Fig. 3에 나타내었다. 정상식이군은 스트레스에 의해 CD4<sup>+</sup> T세포, CD8<sup>+</sup> T세포, B세포의 비율이 모두 감소하는 것으로 보이나 이 수치는 spleen의 세포 10,000개중의 상대적인 비율로 나타난 것으로, 수치에 나타난 대로 spleen내의 T세포, B세포 이외의 세포에는 변화없이 이들만 감소한 경우와 T세포, B세포는 변화하지 않고 다른세포-대부분 거식세포와 과립세포-수가 증가한 경우와 T, B세포와 거식세포와 과립세포 모두 다 변화했지만 상대적인 변화 정도가 다른 경우로 생각할

수 있다.

스트레스는 거식세포나 단핵구의 거식기능의 활성도를 감소시키며<sup>27)</sup> T세포 의존성 항원인 SRBC에 대한 항체 반응이 restraint 스트레스에서 유의적인 감소를 하고<sup>28)</sup>, foot-shock 스트레스에 의해 스트레스 강도에 비례하여 T, B세포 모두 억제시킨다고 보고 되었다<sup>29)</sup>. 이것으로 판단할 때 본 실험은 거식세포, 과립 세포, T, B세포 모두가 감소하였으나 주로 T, B세포가 더 많은 감소를 한 것으로 사료되어진다. 본 실험에서는 CD4/CD8의 비율이 스트레스를 받을때 증가한 것을 알 수 있다. 즉, CD8<sup>+</sup> T세포와 CD4<sup>+</sup> T세포 모두 감소했지만, 그 감소 정도는 CD8<sup>+</sup> T세포는 7.42%에서 4.73%, CD4<sup>+</sup> T세포는 27.82%에서 23.63%로 결국 CD8<sup>+</sup> T세포가 상대적으로 더 감소한 것으로 나타났다. 이는 T세포의 생성시 CD8<sup>+</sup> T세포 생성속도가 파괴속도보다 느려서 일어난 것으로 stress로 인한 CD8<sup>+</sup> T세포의 대사 균형에 이상이 생겼거나 T세포에서 CD8<sup>+</sup> T세포의 분화 속도가 저하했기 때문으로 생각된다. Baker등<sup>8)</sup>은 의대 신입생을 대상으로 초초함을 sressor로 실험하였을 때, 혈액내 CD8<sup>+</sup> T세포는 변화하지 않고 CD4<sup>+</sup> T세포는 증가하였다고 보고하였다. 그러나 Okimura등<sup>29)</sup>은 restraint 스트레스를 Balb/c 생쥐에게 주었을 때 helper T세포는 억제되고 suppressor T세포는 유의적으로 감소함을 보고하였다. 이 결과는 본 연구와 일치하며 한편 스트레스의 면역에 대한 영향은 스트레스의 종류에 따라 다른 것으로 생각된다. 또, 총 T세포(CD4<sup>+</sup> T세포+CD8<sup>+</sup> T세포)에 대한 B세포의 비율이 거의변화가 없는 것으로 보아 T세포가 감소하는 만큼 B세포의 수도 감소했을 것으로 생각된다.

Choquet와 Korn<sup>30)</sup>은 T, B세포, 단핵구와 거식세포에 트립토판의 대사물질인 serotonin 수용체가 있다고 보고했고, 스트레스에 관계되는 호르몬의 수용체도 존재한다는 것은 이미 보고된 바 있다. 본 실험에서 고 트립토판 식이는 임파구에 스트레스와 비슷한 결과를 보였다. 이러한 결과는 serotonin이나 스트레스에 의해 증가된 호르몬이 이들 세포의 수용체를 통해 작용에 의한 것으로 생각된다.



**Fig. 3.** Effects of 3hr immobilization stress and high tryptophan diet in relative number of total T cell, CD4<sup>+</sup> T cell, CD8<sup>+</sup> T cell and B cell in mouse spleen (NC : normal diet and no stress, NS : normal diet and stress, TC : high tryptophan diet and no stress, TS : high tryptophan diet and stress).

고 트립토판 식이군에 스트레스 처리시 T세포는 스트레스나 트립토판 보강에 의한 각각의 효과와 비슷한 강도를 감소되었고 B세포에는 각 경우보다 현저한 감소를 보였다. Choquet와 Korn<sup>30)</sup>는 serotonin 수용체를 구조적으로 세분화하여 B세포에 5HT<sub>1</sub> 수용체계(5HT<sub>1a</sub>, 5HT<sub>1b</sub>, 5HT<sub>1d</sub>)와 5HT<sub>2</sub> 수용체를 가지며, T세포는 주로 5HT<sub>2</sub> 수용체계(5HT<sub>1c</sub>, 5HT<sub>2a</sub>, 5HT<sub>2b</sub>)를 가지고 있다고 보고했다. Scro-

tonin이 HYPAC축을 통해 임파구에 작용하는 positive 효과는 임파구의 종류에 관계없이 일정하고, serotonin수용체들이 임파구의 종류에 따라 다른 결합력을 가져 serotonin이 임파구에 결합하여 나타내는 negative 효과가 다르고 그 결과 이 두 효과의 상쇄하는 정도가 달라져 결국 고 트립토판과 스트레스의 상호작용이 세포의 종류에 따라 다르게 나타난 것으로 생각된다.

## 요약 및 결론

스트레스와 고 트립토판이 마우스의 serotonin 대사와 면역계에 미치는 영향에 대한 관찰은 다음과 같은 결과를 보였다.

### 1) Serotonin 대사에 미치는 영향

스트레스는 뇌의 serotonin 농도를 감소시켰고 그 대사물질인 5HIAA의 농도를 증가시켰으며 혈액과 뇌에서 serotonin의 전구물질인 트립토판의 농도가 감소시켰다. 이때 고 트립토판을 섭취한 마우스는 (TS) 역시 혈액과 뇌의 트립토판 농도가 감소했지만 그 농도는 정상식이를 섭취한 스트레스를 받지않은 마우스(NC)의 농도와 유의적인 차이가 없었다. 스트레스 지표인 corticosterone의 농도는 스트레스를 받을 때 식이군(NS)과 고 트립토판 식이군(TS)에서 모두 증가했지만 그 증가정도는 정상 식이군에서 훨씬 높았으며 NC군과 유의적인 차이를 보였으나, 고 트립토판 식이군에서는 (TS) 정상식이군(NC)과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 결국 고 트립토판은 스트레스를 완화해주는 효과가 있는 것으로 사료된다.

### 2) 면역계에 미치는 영향

스트레스는 total T cell, CD4<sup>+</sup> T cell, B cell의 상대적인 수를 모두 감소시켰으며 특히 CD8<sup>+</sup> T cell 수의 감소가 가장 컸다. 이것은 stress가 CD8<sup>+</sup> T cell의 생성과 파괴의 균형을 깨뜨렸기 때문인 것으로 생각된다. 한편 고 트립토판 역시 조사된 모든 면역 세포의 수를 감소시켰다. 이는 고 트립토판으로 인해 농도가 증가된 신경전달 물질인 serotonin의 작용에 의한 것으로 생각되며<sup>30)</sup> 고 트립토판과 스트레스를 동시에 주었을 때(TS) B cell은 각 경우(NS, TC)보다 더 많은 감소를 보였지만 CD4<sup>+</sup> T cell, CD8<sup>+</sup> T cell은 각각의 경우와 비슷한 감소를 보였다. 이것으로 serotonin이 스트레스를 coping하는 효과에 의해 면역계에 나타나는 positive 효과는 면역세포의 종류에 관계없이 일정하나, serotonin이 직접 면역세포와 결합하여 보여주는 negative 효과는 T cell과 B cell에서 다르게

나타나는 것으로 사료된다<sup>30)</sup>.

결론적으로 고 트립토판은 스트레스를 완화하는 효과를 가지나, 면역계에는 serotonin으로 인해 면역기능의 저하를 보였다. 스트레스는 조사된 모든 면역세포의 수를 감소시켰다. 고 트립토판으로 인해 스트레스가 억제되어 보여주는 면역기능의 저하의 감소는 고 트립토판 자체의 면역 기능 감소의 효과와 상호작용으로 인해 면역 세포의 종류에 따라 다르게 나타났으며, 그 정확한 기작을 알기 위해서는 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

## Literature cited

- 1) Selye H. The stress of life, pp.6-20, Mcgraw-Hill, New York, 1976.
- 2) Torrelas A, Guaza Borrell J, Borrell S. Adrenal hormones and brain catecholamines response to morning and afternoon immobilization stress in rats. *Physiol Behav* 26 : 129-133, 1981
- 3) River C, Bruhn T, Vale W. Effect of ethanol on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rats : Role of corticotropin releasing factor(CRF). *J Phamacol Exp Ther* 229 : 127-131, 1984
- 4) Vessey H, Babara S. Effects of grouping on levels of circulating antibody in mice. *Proc Soc Exp Biol Med* 115 : 252-255, 1964
- 5) Keller SE, Weiss JM, Schleifer SJ, Miller NE, Stein M. Suppression of immunity by stress : Effect of a graded series of stressors on lymphocyte stimulation in the rat. *Science* 213 : 1397-1400, 1981
- 6) 하대유. 단수, 단식이 면역반응에 미치는 영향. *대한면역학회지* 12 : 1-7, 1989
- 7) Baker GH, Byrom NA, Irani MS, Brewerton DA, Hobbs JR, Wood RJ, Nagvekar NM. Stress, cortisol concentrations, and lymphocyte subpopulations. *Brit Med J* 290 : 1393, 1985
- 8) Eliseeva LS, Stefanovich LE. Specific binding of serotonin by blood leukocytes and peritoneal cells in the mouse. *Biokhimiia* 47 : 810, 1982
- 9) Rozman TL, Freifilder AS. The presence of serotonin receptors on murine lymphocytes and macrophages. *Soc Neurosci* 10 : 726, 1984



- 10) Corrodi H, Fuxe K, Hokfelt T. The effect of immobilization stress on the activity of central monoaminergic neurons. *Life Sci* 7 : 107-112, 1968
- 11) Curzon G, Green AR. Regional and subcellular changes in the concentration of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid in the brain caused by hydrocortisone, D, L-methyltryptophan, L-Kynurenine and immobilization. *Brit J Pharmacol* 43 : 39-52, 1971
- 12) Badawy AB, Morgan CJ, Lane J, Dhaliwal K, Bradley DM. Liver tryptophan pyrrolase. *Biochem J* 264 : 597-599, 1989
- 13) De Souza E, Van Loon G. Brain serotonin and catecholamine responses to repeated stress on rats. *Brain Res* 367 : 77-86, 1986
- 14) Paris JM. A comparison of acute stress paradigms : Hormonal responses and hypothalamic serotonin. *Physiol & Behav* 39 : 33-43, 1986
- 15) Bliznakov EG. Serotonin and its precursors as modulators of immunological responsiveness in mice. *J Med* 11 : 81, 1980
- 16) Jackson JC, Cross RJ, Walker, RF, Markesbery WR, Brooks WH, Roszman TL. Influence of serotonin on the immune response. *Immunology* 54 : 505-512, 1985
- 17) Garssen J, Nijkamp FP, Wagenaar SS, Zwart A, Askenase PW, Loveren HV. Regulation of delayed-type hypersensitivity-like responses in the mouse lung, determined with histological procedures : serotonin, T-cell suppressor-inducer factor and high antigen dose tolerance regulate the magnitude of T-cell dependent inflammatory reactions. *Immunology* 69 : 51-58, 1989
- 18) Hellstrand K, Hermodsson S. Monocyte-mediated suppression of IL-2 induced NK-cell activation. *Scand J Immunol* 32 : 183-192, 1990
- 19) Duggan DE, Udenfriend S. The spectrophotofluorometric determination of the tryptophan in plasma and of tryptophan and tyrosine in protein hydrolysates. *J Biol Chem* 223 : 313-319, 1956
- 20) Denckla WD, Dewey HK. The determination of tryptophan in plasma, liver and urine. *J Lab & Med* 69 : 160-169, 1967
- 21) Curzon G, Green AR. Rapid method for the determination of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid in small regions of brain. *Brit J Pharmacol* 39 : 653-655, 1970
- 22) Lantham CJ, Blundell JE. Evidence for the effect of tryptophan on the pattern of food consumption in free feeding and food deprived rats. *Life Sci* 24 : 1971-1976, 1979
- 23) Arnold MA, Fernstrom JD. L-tryptophan injection enhances pulsatile growth hormones secretion in the rat. *Endocrinol* 108 : 331-335, 1981
- 24) Yuwiler A, Brammer GL, Moley JE, Raleigh MJ, Flunnery JW, Geller E. Short-term and repetitive administration of oral tryptophan in normal men. *Arch Gen Psychia* 38 : 619-626, 1981
- 25) Joseph MH, Kennett AG. Stress-induced release of 5HT in the hippocampus and its dependence electrochemical study. *Brain Res* 270 : 251-257, 1983
- 26) Dunn AJ. Changes in plasma and brain tryptophan and brain serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid after footshock stress. *Life Sci* 42 : 853-862, 1988
- 27) Ganong WF. Neurotransmitter synthesis by precursor availability and nutritional state. *Biochem Pharmacol* 25 : 1691-1696, 1987
- 28) Okimura, Ogawa, Yamauchi. Stress and immune response III. Effect of restraint stress on DTH response, NK activity and phagocytosis in mice. *Japan J Pharmacol* 41 : 229-235, 1986
- 29) Okimura, Satomi-Sasaki, Ohkuma. Stress and immune response II. Identification of Stress-sensitive cells in murine spleen cells. *Japan J Pharmacol* 40 : 513-525, 1986
- 30) Choquet D, Korn H. Dual effects of serotonin on a voltage-gated conductance in lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 85 : 4557-4561, 1988