

생쥐에서 전기자극 스트레스에 의한 행동반응과 면역 기능 변화*

김정범**† · 박원균*** · 송대규***

Behavioral Response and Immune Alterations by Electric Footshock in Mice*

Jung Bum Kim, M.D.,**† Won Kyun Park, M.D.,*** Dae Kyu Song, M.D.***

— ABSTRACT ————— *Korean J Psychosomatic Medicine 4(1) : 44-53, 1996* —

The present experiment was designed to investigate the effects of behavioral, response to immune function in response to electric footshock in mice.

Mice were subjected to electric footshock for 3 days(two sessions a day, 11 times of shock for about 31 minutes a session). The humoral immune response was measured using mice immunized with rat RBC. The cell-mediated immune responses were evaluated by contact hypersensitivity to 2, 4-dinitrofluorobenzene(DNFB) and by phytohemagglutinin(PHA)-stimulated splenocytes proliferation assay.

In stressed group, electric footshock suppressed significantly anti-rat RBC antibody production($p < 0.05$), but enhanced significantly T_{48} relative to T_{24} in contact hypersensitivity($P < .01$) and T-cell proliferation response($P < .05$) by PHA stimulation relative to control group. T-cell proliferation response by PHA stimulation was significantly correlated to the movement than the sensitivity and coping behavior in the mouse, in response to the electric footshock.

These data support the importance of behavioral response in stress-induced changes of immune functions.

KEY WORDS : Electric footshock · Behavioral response · Immune function.

*이 논문은 1996년 계명대학교 울종연구비 및 동산의료원 조사연구비로 이루어졌음.

**계명대학교 의과대학 정신과학교실 및 의과학 연구소

Department of Psychiatry, Keimyung University, School of Medicine, Institute for Medical Science, Taegu, Korea

***계명대학교 의과대학 생리학교실 및 의과학 연구소

Department of Physiology, Keimyung University, School of Medicine, Institute for Medical Science, Taegu, Korea

†*Corresponding author, Dongsan Medical Center, Keimyung University, 194 Dongsandong, Choonggu, Taegu, 700-310, Korea*

서 론

현재 스트레스 개념을 살펴보면 반응으로서의 스트레스(Selye 1950), 외부자극으로서의 스트레스(Holms와 Rahe 1967), 개체와 환경과 상호작용으로서의 스트레스(Holroyd와 Lazarus 1982)의 3가지 관점이다. 외부자극으로서의 스트레스 개념을 근거로 할 때 스트레스가 면역기능에 미치는 영향에 대한 동물 실험결과를 보면 급성이나 강한 강도의 스트레스를 가한 경우 대부분의 결과에서 체액성(Solomon 1969; Taylor와 Ross 1989)과 세포성(Joasoo와 McKenzie 1976; Shavit 등 1984) 면역기능이 억제되었다. 그러나 경도내지 중등도의 스트레스(Weiss 등 1989a, 1989b)나 만성적인 스트레스(Monjan와 Collector 1977)는 오히려 세포성 면역기능을 증강시킨다는 일부 연구도 있어 일관성 있는 결과를 얻지 못하였다. 더우기 시간적 요인, 스트레스의 강도와 기간, 통제성, 혐오적 자극의 성질, 유전적 다양성(혈통 차이) 등의 다양한 요인들이 면역반응에 영향을 미치므로(Irwin와 Livnat 1987) 스트레스에 의한 면역반응 결과를 해석하는데 이런 요인들을 고려해야 할 것이다. 그동안 면역기능에 대한 연구는 임파구의 양, immunoglobulin(Ig) 생성, mitogen에 대한 임파구 증식반응, 자연살해세포 활성화도(NK cell activity), 과민반응과 이식편대숙주반응(graft-versus-host reaction) 등의 매개변수를 측정하여 이루어졌다.

최근에는 개체와 환경사이의 상호작용으로서의 스트레스 개념이 부각되면서 양자 상호관계의 심리적 매개변수와 인지, 정서적 평가와 대응의 중요성을 강조하게 되었다. 심리적 요인은 스트레스에 대한 생리적 반응과 그들의 병리적 결과에 크게 영향을 미치기 때문에 스트레스 연구에서 아주 중요하다(Sklar와 Anisman 1979; Kagan과 Levi 1974; Dantzer와 Mormde 1983). 더구나 심리적 요인은 전기자극과 같은 물리적 스트레스가 면역기능에 미치는 효과에 결정적으로 중요하다(Laudenslager 등 1983).

먼저 환경적 스트레스의 통제성과 예측성이 스트레스 반응에 중요한 영향을 미치는데(Bohus 등 1987), 이들과 면역기능과의 연관성을 연구한 Sklar와 Anisman(1979)은 혐오적 자극에 대한 통제력 유무가 면역기능에 큰 영향을 미쳐 피할 수 없는 전기자극을 받은 백서

에서 피할 수 있는 백서보다 중앙 성장이 증가됨을 보고하였고, Laudenslager 등(1983)은 통제할 수 없는 전기자극은 면역억제를 유도하나 통제할 수 있는 전기자극은 면역반응에 영향을 미치지 않는다고 하였다. 예측할 수 없는 전기자극을 받은 백서에서 예측할 수 있는 전기자극을 받은 백서보다 T 세포 mitogen에 대한 비장세포의 증식능이 감소되었다(Mormde 등 1988). 회피-회피 갈등의 심리적 스트레스를 이용한 한상진 등(1992)은 전기자극, 구금, 금식 등의 조건이 같을 때 갈등군이 갈등 상황이 없는 군보다 임파구 증식능이 유의하게 감소를 보인다고 하였다.

환경적 도전에 대해 공격적인 동물은 능동적 대응방식, 비공격적 동물은 수동적 대응방식을 택하는 것과 같이(Bohus 등 1987; Benus 등 1991) 개개의 동물들은 환경적 도전에 대한 대응력 차이로 신경내분비적, 면역학적 결과들이 다르고, 많은 연구들에서 대응과 정서적 요인의 개인적 차이가 스트레스와 면역에 있어 중요한 요소임이 밝혀졌음에도 스트레스와 면역기능에 관한 기존의 많은 연구에서 대응방식의 문제를 고려하지 않았다(Koolhaas와 Bohus 1995).

이에 본 연구에서는 외부자극으로서 스트레스 개념에 따라 전기자극을 사용하여 기존의 물리적 스트레스가 면역기능에 미치는 영향을 조사하고, 환경과 개체사이의 상호작용으로서 스트레스 개념에 따른 심리적 매개변수에 중점을 두어 전기자극에 대한 행동반응을 민감도(sensitivity), 움직임(movement) 및 대응행동(coping behavior)으로 나누어 이들과 면역반응 결과 간의 상관성을 조사하여 행동반응이 면역기능에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구 대상

생후 8~10주된 수컷 ICR 생쥐를 사용하였다. 각 생쥐의 사회적 활동 정도가 면역학적 결과에 영향을 미칠 수 있으므로(Raab 등 1986) 생후 같은 cage에서 자란 생쥐 중 5마리씩 다른 cage에 넣어 실험 약 4주 전부터 사육하였다. 생쥐는 수돗물과 동물사료(삼양유지사료주식회사)만 공급하고 가능한 스트레스를 받지 않도록 사육하였다. 실험동물의 주야주기는 오전 6시부터 오후 6시까지를 낮주기로 적응시켰다. 실험에 사용된 생쥐는

총 35마리로, ①백서 적혈구에 대한 특이항체생성반응을 조사하기 위해 전기자극을 받은 군(이하 스트레스군이라 함) 10마리와 대조군 5마리, ②접촉성과민반응을 조사하기 위해 스트레스군 8마리와 대조군 4마리, ③ phytohemagglutinin(PHA)에 의한 비장 단핵구 증식반응을 조사하기 위해 스트레스군 4마리와 대조군 4마리였다.

2. 연구 방법

1) 전기자극 조작

생쥐의 발이 닿으면 전기충격장치(Campden Instrument, model 521/CS)로부터 전기자극을 받도록 구리선을 5mm 간격으로 평행되게 붙인 석쇠(grid) 플라스틱 판(235×380×2mm)을 cage 밑바닥에 꼭 맞도록 놓고 한번 실험시 2 cage에 동시에 전기자극을 가하였다.

전기자극은 1회(약 31분 50초 소요)에 11번 빈도, 3분 간격, 10초의 기간으로 가하였으며, 하루에 오전 9시와 오후 5시경 두 차례씩 3일간 가했다. 전기자극의 강도는 1, 2회는 1.07mA로 시작하여 24시간 간격으로 약 0.2mA씩 증가시켰으며 3, 4회는 1.28mA, 5, 6회는 1.49mA였다. 이하 실험에서 동일한 방법의 전기조작을 하여 면역학적 매개변수를 측정하였다. 전기자극의 강도를 높여주는 이유는 오랫동안 동일한 강도의 자극을 받는 경우 자극에 따르는 통증의 체감 강도가 감소되므로 스트레스를 계속 유지하기 위해서였다(박영숙과 김기석 1988). 대조군은 전기자극을 전혀 받지 않았고 스트레스군과 똑같은 시간과 횟수 동안 두었다가 전기자극 장치가 설치된 cage에 원래 cage로 옮겼다.

2) 전기자극동안 생쥐의 행동관찰

한 실험자는 전기자극을 가하는 것만 전담하고 다른 실험자는 행동관찰만 전담하였다. 실험자들이 생쥐의 시야에 가까이 있으므로 해서 어떤 스트레스 인자로 작용하지 않도록 전기자극 장치 주위에 커튼을 쳐서 전기자극을 주고 관찰창만 내어 생쥐의 행동을 관찰하였다. 예비실험을 통하여 전기자극을 받은 생쥐들의 반응을 자세히 관찰해본 결과 전기자극 후 그 행동반응을 민감도, 움직임, 대응행동의 행동반응으로 구분될 수 있어서 이 3가지 행동반응을 토대로 행동반응을 평가하였다. 각 행동반응을 점수화하여 그 범위는 1~4점으로 하고 행동반응의 정도가 심하거나 빈도가 잦을수록 높은 점수를 주었다.

민감도란 전기자극을 받은 직후 생쥐의 행동반응으로 정의하고 별로 반응이 일어나지 않으면 1점, 짹 짹 소리 내며 위로 뛰는 경우는 4점으로 정하였다. 움직임이란 전기자극이 끝나고 일어나는 활동의 정도로 정의하고 활동이 거의 없는 경우는 1점, 활발히 움직이는 경우는 4점으로 정하였다. 대응행동이란 전기자극을 받은 후 도망갈려고 탐색하거나 위로 뛰어 오르든지, 통증의 체감을 줄이기 위해 앞발을 들거나 다른 동물위에 올라타는 행동으로 정의하고 이런 행동들이 거의 보이지 않으면 1점, 비교적 자주 일어나면 4점으로 정하였다. 각 행동반응에 대해 매회마다 점수를 매겨 총 6회의 전기자극 동안의 총점수를 계산하였고 만점은 24점이었다. 그리고 각 생쥐의 3가지 행동반응의 점수를 모두 합하여 총괄행동 점수도 나타내었다.

3) 면역반응 측정

(1) Anti-rat RBC 항체가 측정

Rat RBC를 phosphate buffered saline(PBS)으로 3회 원심세척한 후 PBS에 2×10^7 cell/ml 농도로 부유시켜 세포부유액을 만든 뒤 생쥐 복강에 0.5ml씩 주사하여 면역조치하였다. 다음날부터 3일간의 전기자극을 가하였고, 4일째 심장을 천자하여 채혈한 후 혈청을 분리하였으며, 혈청내 anti-rat RBC 항체는 직접혈구 응집법(direct hemagglutination method)으로 측정하였다. 혈청을 56°C 수조에 30분간 방치하여 비동화시킨 후 96 well microplate에 첫 열에 50 μ l씩 분주하고 PBS는 모든 well에 50 μ l씩 분주한 후 hand diluter로 혈청을 2배씩 배수희석하였다. 혈청이 희석된 plate의 모든 well에 0.5% rat RBC 용액을 50 μ l씩 분주하여 실온에 3시간 방치하여 응집 유무를 관찰하였으며, 응집을 나타낸 최고 혈청희석배수의 역수를 구한 뒤 log₂를 취하여 항체가로 나타내었다(하대유 등 1989).

(2) 접촉성 과민반응 측정

접촉성 과민반응을 유도하기 위하여 acetone-olive유에 용해된 0.5% 2, 4-dinitro-1-fluorobenzene(DNFB) 용액을 25 μ l씩 생쥐 복측 피부에 2일간 연속 도말하여 감각 조치시킨 후 다음날부터 3일간 전기자극을 가하고, 4일째 0.2% DNFB 용액을 생쥐 좌측귀 양면에 각각 10 μ l씩 도말하여 접촉성 과민반응을 야기시켰다. Micrometer(Mitutoyo Co.)를 사용하여 DNFB 야기조치 직전(T₀),

24시간(T_{24}) 및 48시간(T_{48}) 후 귀종창 두께를 측정하였으며 귀종창 증감 정도를 다음의 공식으로 평가하였다(하대유 등 1989).

$$\% \text{ Increase} = \frac{T_{24} \text{ or } T_{48} - T_0}{T_0} \times 100$$

(3) 비장 단핵구 증식능 검사

전기자극을 3일 동안 가하고 그 다음날 생쥐를 희생시켜 비장을 적출한 뒤 압착(squeezing)하여 비장세포 부유액을 만들고 여기에 동량의 Hank's balanced salt solution(HBSS)을 넣어 희석한 뒤 Ficoll/Hypaque(F/H) solution 위에 부드럽게 중층시키고 2400rpm(900g)에서 20분간 원심분리하였다. F/H층과 HBSS층 사이에 있는 단핵구 세포층을 수거하여 HBSS에 재부유시킨 후 3회 원심세척하고 최종 세포 pellet을 10% fetal bovine serum이 함유된 RPMI-1640배지(RPMI-10)에 2×10^6 cell/ml 농도로 부유시켰으며 mitogen으로서 PHA를 2.5µg/ml 농도로 첨가하여 세포부유액을 준비하였다. 단핵구 부유액을 96 well plate에 well당 200µl씩을 분주한 후 잘 혼합한 뒤 36°C, 5% CO₂ 배양기에 넣어 60시간 배양하였으며, 여기에 ³H-thymidine을 각 well에 0.5µCi씩 첨가하여 12~18시간 더 배양하였다. 배양종료후 cell harvester(Dynatech Co.)로 세포를 glass filter paper에 수거한 뒤 1 l toluene에 2,5-di-methyl oxazole 4g, 1,4-bis [5-phenyl-2-oxazolyl] benze-ne, 2,2'-p-phenylenebis [5-phenyloxazole] 0.1g이 들어 있는 cocktail solution에 넣어 beta-counter(Packard Co., TRI-CABB 4530)로 cpm을 측정하였다(하대유 등 1992).

4) 통계 분석

Anti-rat RBC 항체 측정, 접촉성 과민반응 측정, 비장 단핵구 증식능 검사에 있어 스트레스군과 대조군 간의 비교는 비모수검증법인 Mann-Whitney U test를 이용하였다. 스트레스 행동반응 즉, 민감도, 움직임 및 대응행동과 면역반응 결과 간의 상관관계를 조사하기 위해 단순선형 회귀분석(simple linear regression analysis)을 적용하였다. 통계적 유의수준은 $p < 0.05$ 로 하였다.

결 과

1. Anti-rat RBC 항체 반응

전기자극이 생체내에서 백서 RBC에 대한 체액성 면역

반응에 미치는 영향을 알아보기 위하여 백서 RBC로 면역시킨 후 전기자극을 3일간 ICR mice 스트레스군에 가한 후 백서 RBC에 대한 항체생성반응을 직접혈구응집법으로 측정하고 그 결과를 대조군과 비교하였다(Fig. 1). 스트레스군에서 대조군보다 항체생성반응이 유의하게 감소하였고($p < 0.05$). 스트레스에 따른 행동반응과 항체생성반응간의 상관성은 없었다.

2. DNFB에 대한 접촉성 과민반응

전기자극이 생체내에서 DNFB에 대한 접촉성과민반응에 미치는 영향을 알아보기 위하여 DNFB로 감작하고 전기자극을 3일간 가한 후 DNFB에 대한 접촉성 과민반응을 귀종창 증가 정도로 측정하고 그 결과를 대조군과 비교하였다(Fig. 2). T_{24} 는 스트레스군과 대조군간에 차이가 없었으나, T_{48} 은 대조군에는 T_{24} 에 비해 3.9% 증가를 보였으나 스트레스군은 70.7%의 유의한 증가를 보였다($p < 0.01$). 스트레스에 따른 행동반응과 접촉성 과민반응 간의 상관성은 없었다.

3. 비장 단핵구 증식능

전기자극이 PHA mitogen에 대한 비장 단핵구의 증식능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 증식정도를 ³H-thymidine incorporation assay법으로 측정하여 대조군과 비교하였다(Fig. 3). 스트레스군에서 대조군보다 비장 단핵구 증식능이 유의하게 증가하였다($p < 0.05$).

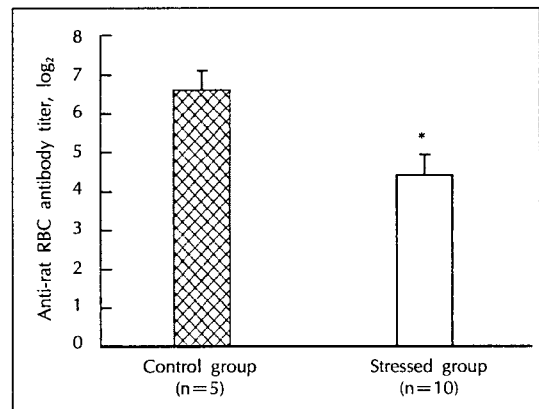


Fig. 1. Effects of electric footshock on the anti-rat RBC antibody response in ICR mice. Mice were subjected to electric footshock for 3 days(two sessions a day, 11 times of shocks, and for about 31 minutes a session) after immunization with 0.5ml of rat-RBC suspension and bled for detection of anti-rat antibody 4 day later. Data are expressed as mean \pm SE. * $P < 0.05$ vs. control group.

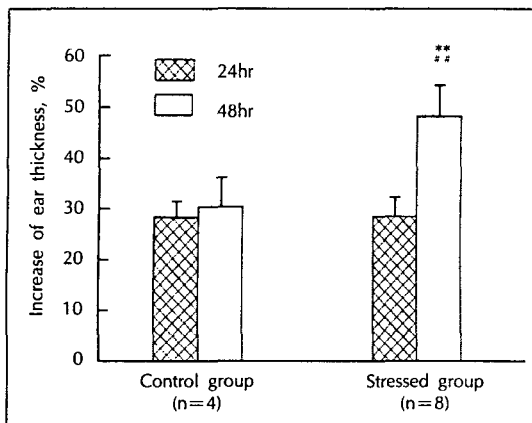


Fig. 2. Effects of electric footshock on the contact hypersensitivity to DNFB in ICR mice. Mice were subjected to electric footshock for 3 days (two sessions a day, 11 times of shocks, and for about 31 minutes a session) before sensitization with DNFB. Data are expressed as mean \pm SE. ** $P < .01$ between T_{24} and T_{48} within each group. ** $P < .01$ amount of changes in T_{48} between stressed and control group.

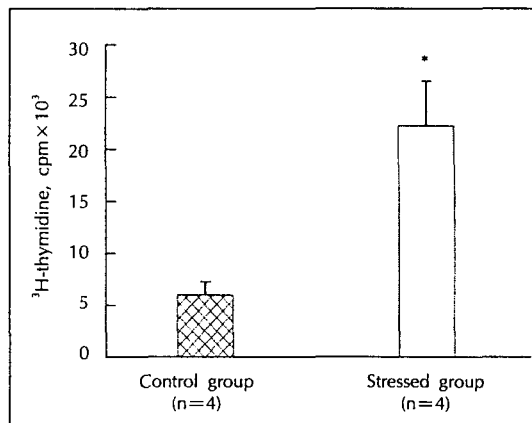


Fig. 3. Effects of electric footshock on the DNA synthesis of splenocytes stimulated with PHA (2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) in ICR mice. Mice were subjected to electric footshock for 3 days (sessions a day, 11 times of shocks, and for about 31 minutes a session) before removing spleen. PHA-stimulated cells were cultured for 60 hrs. After addition of ^3H -thymidine, cells were cultured for 12-18 hrs and then harvested. Data are expressed as mean \pm SE. * $P < .05$ vs. control group.

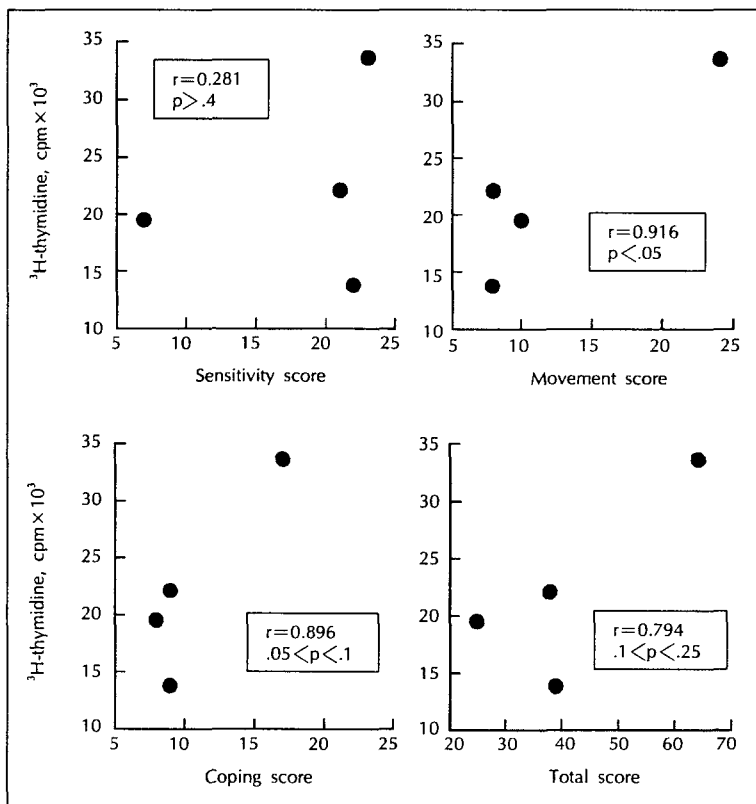


Fig. 4. Scatter plot relating amount of ^3H -thymidine incorporation into DNA of splenocytes stimulated with PHA (2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) to stress response parameters.

스트레스에 따른 행동반응과 세포증식능 간의 상관관계를 보면 전기자극 후 움직임과 세포증식능 간에는 유의한 상관성을 보였으며($r=0.916, p<0.05$) (Fig. 4), 대응 행동과 세포증식능 간에는 유의하지 않으나 비교적 높은 상관성의 경향을 보였다($r=0.896, 0.05<p<0.1$).

행동관찰 도중 특이한 현상이 일어났는데 실험전 7일간의 행동관찰에서 전혀 공격적 행동을 보이지 않았던 1마리의 생쥐가 3일간의 전기자극을 받은 직후 10여분 동안 아주 공격적 행동을 보였다.

토 론

본 연구에서 백서 RBC에 대한 항체생성반응은 스트레스군에서 유의하게 억제되었다. 본 실험의 결과와 유사하게 전기자극에 의해 단백질 항원인 keyhole limpet hemocyanin(KLH)에 대한 특이적 *in vivo* IgG 항체생성이 억제되었다는 다른 연구들이 있고(Laudenslager 등 1988; Moynihan 등 1990), 전기자극의 억제(Boranic 등 1983), overcrowding(Solomon 1969) 및 immobilization(Taylor와 Ross 1989)에 의해서도 항체생성반응이 감소된다는 다른 연구 결과도 있었다. Fleshner 등(1992)은 피할 수 없는 전기자극에 의해 항체생성반응이 억제되는 기전은 임파구 아군(subpopulations)의 특이한 변화 즉, cluster differentiation(CD)4⁺와 CD8⁺의 비(CD4⁺/CD8⁺)가 증가되기 때문이라고 하였다. CD4⁺와 CD8⁺는 T세포에 존재하는 표지자를 말하며 일반적으로 CD4⁺ 세포의 기능은 helper/inducer이고 CD8⁺의 기능은 suppressor/cytotoxic이다. 스트레스가 항체생성반응에 미치는 효과는 항원과 스트레스에 노출간의 시간 조건에 의해 영향을 받는다. 생쥐가 면양 적혈구(SRBC)로 면역 조치되기 전에 억제에 노출될 경우 항체생성반응이 감소되었으나 면역조치 후 억제 스트레스에 노출될 경우는 항체생성반응이 감소되지 않았다(Okimura와 Nigo 1986). 결국 스트레스에 노출이 그 효과를 가지는 정확한 시간 간격은 스트레스의 형태, 면역조치 경로, 항원의 형태나 양에 의해 영향을 받는다(Laudenslager와 Fleshner 1994).

DNFB에 대한 접촉성 과민반응은 야기조치 24시간 후에는 스트레스군과 대조군 간에 유의한 차이가 없었으나, 야기조치 48시간 후에는 야기조치 24시간 후에 비해 스트레스군에서 유의한 증가를 보였다. Gross와 Sie-

gel(1988)은 스트레스는 세포성 면역의 감작을 촉진시키나 야기는 억제시킨다고 하였다. 전기자극 이외의 스트레스에 의한 지연성 과민반응에 관한 연구를 보면, Bl-echa등(1982)은 접촉감작의 유도나 표현에 관해서 스트레스가 주어진 시간에 관계없이 물리적 억제, 한냉, 온열 스트레스를 받은 생쥐는 DNFB에 대한 접촉성 과민반응이 증가하였으나 SRBC에 대한 지연성과민반응은 물리적 억제에 의해서는 감소하고 온열에 의해서는 증가하고 한냉에 의해서는 증가하거나 감소한다고 보고하였다. 斷食, 斷水에 의해 SRBC와 DNFB에 대한 지연성 과민반응이 항진되는 연구도 있었다(하대유와 백운이 1989).

PHA에 대한 비장 단핵구 증식능은 스트레스군에서 대조군보다 유의하게 증가하는 것으로 나타났다. 거의 대부분의 연구에서 급성적인 환경적 자극에 노출된 경우 세포성 면역반응의 억제가 일어난 반면 소수의 연구에서만 비교적 경한 급성 스트레스에 노출시 세포성 면역반응이 항진되었다(Berkenbosch 등 1986; Croiset 등 1987). Weiss 등(1989a, 1989b)은 아주 경한 자극(handling)과 강렬한 자극(19시간 동안 꼬리에 전기자극)은 포성 면역반응을 억제하고 중등도의 자극(3회 전기자극)은 면역반응을 증강시켰다고 하였다. 장기간이나 반복적인 만성적 스트레스에 노출시 면역증강이 일어났다. Monjan과 Collector(1977)는 소음에 4~6주간 노출될 때 mitogenesis와 세포매개성 독성이 증가된다고 하였다. 스트레스에 만성적인 노출이 초기의 면역 억제 효과를 감소시킨다는 사실은 스트레스에 장기간 노출이 종양 발생에 대한 저항을 증가시킨다는 종양 발생에 대한 연구에서도 지지를 받고 있다(Riley 1981; Sklar와 Anisman 1981). 본 연구에서도 전기자극 기간은 3일간 일지라도 전기자극 빈도는 총 66회로 반복적인 스트레스라고 볼 수 있어 면역증강이 일어난 것으로 생각된다.

동물이 스트레스에 반복해서 노출될 때 생리계와 신경화학계는 스트레스에 의해 유도된 초기 변화가 감소되는 습성화(habituation)가 일어나 세포성 면역반응의 억제가 잘 역전될 수 있는데 이는 뇌에서 시상하부-부신계와 noradrenergic neural systems의 활성화 때문에 일어난다(Weiss 등 1976; Zigmond와 Harvey 1970). 그러나 스트레스에 의한 면역증강은 어떤 특정한 경우임을 유념해야 하는데 그 이유는 첫째, 이것을 증명해주는 연구 수가 매우 적고 둘째, 스트레스에 노출후 면역반응이

증가되는데 필요한 정확한 시간 경과를 주의깊은 설명을 요한다(Weiss와 Sundar 1992). 그러므로 스트레스로 인한 면역반응의 억제를 역전시켜 면역증강을 야기시킬 정확한 매개변수는 현재 의문으로 남아있다.

전기자극에 의해 체액성 면역반응은 억제되는 반면, 세포성 면역반응은 항진되어 같은 형태와 강도의 스트레스에 의해 면역반응이 서로 다른 해리(dissociation) 현상이 일어났다. 이런 현상은 다른 연구들에서도 볼 수 있다. Mormde 등(1988)의 연구에서 shuttle box에서 10회의 연속적인 회피 학습을 한 흰쥐는 그들의 행동에 관계없이 footshock를 받은 동물보다 mitogens에 대한 임파구 증식반응이 더 증가한 반면에, SRBC에 대한 항체 역가는 더 낮은 결과가 초래되어 면역반응의 형태에 따라 스트레스에 대한 통제성의 결과가 다름을 시사하였고, Coke 등(1993)은 shocked donors로 부터의 악취(odours)에 24시간 노출된 생쥐는 대조군과 비교해서 T 세포 mitogen으로 자극된 비장세포의 interleukin-2 생산과 자연살해세포 활성이 감소하고 KLH에 대한 immunoglobulin(Ig)M과 IgG 항체역가는 증가되었다. 斷食, 斷水에 의해 SRBC와 DNFB에 대한 지연성 과민반응이 항진된 반면 SRBC에 대한 항체형성은 억제되었다(하대유와 백운이 1989). 같은 스트레스에 대해 면역계가 다른 응답을 보여주는 감수성의 차이에 대한 타당한 설명이 아직 없을지라도, 이런 차이는 대식세포와 T 세포 subsets와 같은 면역세포가 면역반응의 각각 다른 범주에 차별적으로 관여함을 반영할 수 있다(Mormde 등 1988). Moynihan 등(1994)은 이와같은 세포성과 체액성 면역반응의 차별적 변화는 T1 helper(T_H1)과 T2 helper(T_H2) 세포의 두가지 T_H cell subsets의 차별적 활성화 즉, 어떤 자극이 T_H2 세포는 활성화시키고 T_H1 세포는 하향 조절(down regulation)시키기 때문이라고 가정하였다.

환경과 개인의 상호작용이 스트레스와 면역간의 관계를 이해하는데 아주 중대하다(Koolhaas와 Bohus 1995). 이에 본 연구는 전기자극 후 스트레스 행동반응을 민감도, 움직임, 대응 행동으로 나누어 이들과 면역반응 결과간의 상관관계를 조사한 결과 PHA mitogen에 대한 비장 단핵구 증식능과 생쥐의 움직임과 유의한 상관성이 있었다. 즉, 생쥐의 움직임이 활발할수록 증식능이 증가하였다. Mormde 등(1988)은 footshock를 회피하는 동물에서 비회피동물보다 감소된 항체반응을 보인 이유는 상황에 대

해 행동적 통제를 계속하려고 애쓰는 동물에서 교감신경계 활동이 증가하고(Henry와 Stephens 1977; Henry 1982), 교감신경계가 일차적인 항체 형성에 부정적 영향을 가지기 때문이라고(Beesedovsky 등 1979; Williams 등 1981) 설명하였다.

교감신경계의 활성화와 임파구와의 catecholaminergic interaction은 스트레스로 인한 세포성 면역반응의 억제를 매개하는데 역할을 한다는 연구결과가 있다(Cunnick 등 1990). 특히 Weiss와 Sundar(1992)는 스트레스를 받는 조건하에서 비장 임파구의 면역반응은 교감신경계의 활동에 우세하게 영향을 받고 혈액 임파구는 순환하는 steroids에 의해 우세하게 영향을 받는다고 하였다. 그러나 스트레스 형태와 통제성에 따라 신경내분비 반응이 달라 급성 스트레스에 의해서는 일반적으로 cortisol과 norepinephrine의 분비가 증가되나, 만성 스트레스에서는 백서의 실험에서 norepinephrine은 증가되고(Irwin 등 1986), cortisol 수준은 저하되었다(Mason 1968). 또 동물실험에서 조절할 수 없는 스트레스에 노출될 경우 중추신경계의 catecholamine이 감소된다. 이상의 연구결과를 참조할 때 3일간의 조절할 수 없는 스트레스를 가한 본 연구에서 혈중 catecholamine과 cortisol을 측정하였다면 생쥐의 움직임과 세포증식능 간의 상관관계를 설명하는데 도움이 될 것으로 생각된다.

Gellhorn(1969)은 특히 스트레스에 의해 유발되는 정서를 적절하게 표현하면 교감신경계의 흥분을 종결지어 자율신경계의 균형을 회복시켜주기 때문에 유기체에 유익한 결과를 가져다 주지만, 이와 반대로 정서적 표현을 적절하게 못하면 교감신경계와 부교감신경계가 동시에 흥분되어 긴장과 갈등상태가 계속되고 나아가 유기적 질환이 발생된다고 주장하였다. 본 연구에서 지속적인 전기자극에도 불구하고 위축되지 않고 활발히 움직이는 생쥐는 위축된 생쥐보다 교감신경계와 부교감신경계 흥분을 감소시킬 수 있어 이런 점과 면역반응의 증가와의 연관성을 생각할 수 있는데 이에 대해서는 추후 연구가 필요할 것으로 생각된다.

본 연구에서 대응행동과 비장 단핵구 증식능간의 상관성이 통계적으로 유의하지 않으나 높은 상관성의 경향을 보였다. 적극적 대응방식과 소극적 대응방식은 기초 신경내분비적 상태와 반응성이 달라 적극적 대응방식은 교감신경계의 반응성이 높고 소극적 대응방식은 시상하부-부신피질 축에 더 반응적이다(Bohus 등 1987). 신

경내분비계가 뇌와 면역계 간의 교통에 중요한 매개 역할을 한다(Carlson과 Felten 1989)는 견지에서 서로 다른 대응방식을 가진 동물들은 그들의 면역성이 다르다고 생각할 수 있다.

본 연구에서 특이한 현상으로 실험 전 7일간의 행동관찰에서 전혀 공격적 행동을 보이지 않았던 1마리의 생쥐가 3일간의 전기자극을 받은 직후 10여분 동안 아주 공격적 행동을 보였다. 이는 스트레스에 의해 공격적 경향성을 유발시킬 수 있음을 말해주고 다른 연구에서도 격리(Mine 등 1981), 구금 및 전기자극 스트레스(Guille과 McCutcheon 1980)에 의해 공격성이 항진됨을 보여주었다.

본 연구결과에서 전기자극 스트레스에 대한 행동반응 중 움직임이 면역반응과 상관성이 있는 점으로 보아 스트레스에 대한 면역학적 결과를 해석할 때 이 점도 반드시 고려를 해야 할 것 같다. 본 연구에서 미비한 점을 보완하기 위해서는 실험동물 수를 늘이고 생리적 증대기전을 밝히기 위해서 스트레스와 연관된 호르몬을 동시에 측정하는 연구가 수행되어야 하겠다. 또 행동반응을 민감도, 움직임 및 대응행동으로 나누었는데 실제 반응 양식을 평가할 때 일부에서는 이 행동반응이 중첩되어 평가하기 애매한 점도 있어 좀더 객관화할 수 있는 행동반응을 확인하여 면역반응과의 상관성을 조사하므로써 더 나은 결과를 얻을 수 있을 것을 생각한다.

결 론

전기자극 스트레스가 생쥐의 면역계에 미치는 영향을 조사하기 위해 체액성과 세포성 면역반응을 조사하고, 심리적 매개변인인 스트레스에 대한 행동반응을 민감도, 움직임, 대응행동으로 나누어 이들과 면역반응 결과 간의 상관관계를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 생체내 면역반응을 평가하기 위하여 흰쥐 적혈구에 대한 특이항체생성반응은 스트레스군에서 대조군보다 항체생성반응이 유의하게 감소되었고($p < 0.05$), 스트레스에 따른 행동반응과 항체생성반응 간의 상관성은 없었다.

2) DNFB에 대한 접촉성 과민반응 실험에서 T_{24} 는 스트레스군과 대조군 간에 차이가 없었으나 T_{48} 은 T_{24} 에 비해 스트레스군에서 유의한 증가를 보였다($p < 0.01$). 스트레스에 따른 행동반응과 접촉성 과민반응 간의 상관

성은 없었다.

3) Phytohemagglutinin으로 자극된 비장 단핵구의 증식에 미치는 영향을 알아보기 위해 3H -thymidine incorporation 검사를 실시한 결과 스트레스군에서 대조군보다 유의하게 세포증식반응이 증가하였다. 스트레스에 따른 행동반응과 세포증식능 간의 상관관계를 보면 전기자극 후 움직임과 세포증식능 간에는 유의한 상관성을 보였으며 대응 행동과 세포증식능 간에는 통계적으로 유의하지 않으나 비교적 높은 상관성의 경향을 보였다.

이상의 면역반응 결과로 볼 때 3일간의 전기자극을 가할 경우 스트레스군에서 대조군보다 항체생성반응은 감소되었고 세포증식반응은 증가되는 면역반응의 해리 현상이 일어났고, 전기자극에 대한 행동반응과 같은 스트레스의 심리적 요인이 면역기능의 변화에 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다. 향후 연구에서는 면역학적 결과에 대한 생리적 증대기전을 밝히기 위해 스트레스와 연관된 호르몬도 동시에 측정하는 것이 좋을 것으로 생각된다.

중심 단어 : 전기자극 · 행동반응 · 면역기능.

REFERENCES

- 박영숙, 김기석(1988) : 스트레스 반응이 항정신성 약물에 미치는 효과. 임상심리학회지 7 : 1-20
- 하대유, 박종욱, 박윤규(1989) : 녹농균 Exotoxin A에 의한 면역반응 변화. 대한면역학회지 11 : 45-58
- 하대유, 백운이(1989) : 단식 및 단수가 마우스의 면역반응에 미치는 영향. 대한면역학회지 11 : 1-12
- 하대유, 오영미, 박종욱(1992) : Morphine, Meperidine 및 Naloxone이 마우스의 면역 반응에 미치는 영향. 대한면역학회지 14 : 107-116
- Benus RF, Bohus B, Koolhaas JM, van Oortmerssen GA (1991) : Heritable variation in aggression as a reflection of individual coping strategies. *Experimentia* 47 : 1008-1019
- Berkenbosch F, Heijnen CJ, Croiset G(1986) : Endocrine and immunological responses to acute stress. In : Plotnikoff NP, Faith RE, Murgu AJ(ed), *Enkephalins and Endorphins : Stress and the Immune System*. New York, Plenum, pp109-118
- Blecha F, Barry RA, Kelley RA(1982) : Stress-induced alterations in delayed-type hypersensitivity to SRBC

- and contact sensitivity to DNFB in mice. *Pro Soc Exp Bio Med* 169 : 247-252
- Bohus B, Benus RF, Fokkema DS, Koolhaas JM, Nyakas C, Van Oortmerssen GA, Prins AJA, De Ruiter AJH, Scheurink AJW, Steffens AB(1987) : Neuroendocrine states and behavioral and physiological stress responses. In : De Kloet ER, Wiegant VM, Wied(eds), *Progress in Brain Research* 72nd Ed. Elsevier, Amsterdam, pp57-70
- Boranic M, Poljack-Blazi M, Sverko V, Pericic D(1983) : Suppression of the immune response of rats by prolonged overcrowding stress. *Iugoslav Physiol Pharmaco Acta* 19 : 347-351
- Carlson SL, Felton DL(1989) : Involvement of hypothalamic and limbic structures in neuralimmune communication. In : Liss AR(ed), *Neuroimmune Networks : Physiology and Diseases*. New York, pp219-226
- Coke R, Moynihan JA, Cohen N, Grotta LJ, Ader R (1993) : Exposure to conspecific alarm chemosignals alters immune responses in BALB/c mice. *Brain Behav Immun* 7 : 36-46
- Croiset G, Heijnen CJ, Eldhuis DH, de Wied D, Balleux RE(1987) : Modulation of the immune response by emotional stress. *Life Sci* 40 : 775-782
- Cunnick JE, Lysle DT, Kucinski BJ(1990) : Evidence that shock-induced immune suppression is mediated by adrenal hormones and peripheral α -adrenergic receptors. *Pharmacol Biochem Behav* 36 : 645-651
- Dantzer R, Mormde P(1983) : Stress in farm animals : A need for evaluation. *J Anim Sci* 57 : 6-18
- Gross WB, Siegel PB(1965) : The effect of social stress on resistance to infection with *Escherichia coli* and *Mycoplasma galisepticum*. *Poult Sci* 44 : 998-1001
- Henry JP(1982) : The relation of social to biological processes in disease. *Soc Sci Med* 16 : 369-380
- Henry JP, Stephens PM(1977) : Stress, health and the social environment. A sociobiological approach to medicine. New York, Springer Verlag
- Holmes JH, Rahe RH(1967) : The social readjustment rating scale. *J Psychosom Res* 11 : 213-218
- Holroyd KA, Lazarus RS(1982) : Stress, coping and somatic adaptation. In : Goldberger, Brenitz S(ed), *Handbook of Stress-Theoretical and Clinical Aspects*. New York, The Free Press, pp21-35
- Irwin J, Ahluwalia P, Anisman H(1986) : Sensitization of norepinephrine activity following acute and chronic foot shock. *Brain Res* 379 : 98-103
- Irwin J, Livnat S(1987) : Behavioral Influences on the immune system : Stress and conditioning. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiat* 11 : 137-143
- Joasoo A, McKenzie JM(1976) : Stress and immune response in rats. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 50 : 659-663
- Kagan AR, Levi L(1974) : Health and environment- psychosocial stimuli. *Soc Sci Med* 16 : 225-241
- Koolhaas JM, Bohus B(1995) : Animal models of stress and immunity. In : Leonard BE, Miller K, Stress, the Immune System and Psychiatry. Chichester, John Wiley & Sons Ltd, pp70-83
- Laudenslager ML, Fleshner M(1994) : Stress and immunity : Of mice, monkeys, models, and mechanisms. In : Glaser R, Kiecolt-Glaser JK(ed), *Handbook of Human Stress and Immunity*. Academic Press, San Diego, pp161-181
- Laudenslager M, Fleshner M, Hofstadter P, Held PE, Simons L, Maier SF(1988) : Suppression of specific antibody production by inescapable shock : Stability under varying conditions. *Brain Behav Immunol* 2 : 92-101
- Laudenslager ML, Ryan SM, Drugan RC, Hyson RL, Maier SF(1983) : Coping and immunosuppression : Inescapable but not escapable shock suppresses lymphocyte proliferation. *Science* 221 : 568-570
- Mason JW(1968) : A review of psychoendocrine research on the sympathetic-adrenal medullary system. *Psychosom Med* 30 : 631-653
- Monjan AA, Collector MI(1977) : Stress-induced modulation of the immune response. *Science* 196 : 307-308
- Mormde P, Dantzer R, Michaud B, Kelly Kw, Le Moal M(1988) : Influence of stressor predictability and behavioral control on lymphocyte reactivity, antibody responses and neuroendocrine activation in rats. *Physiol Behav* 43 : 577-583
- Moynihan JA, Ader R, Grotta LJ, Schachtman TR, Cohen N(1990) : The effects of stress on the development of immunological memory following

- low-dose antigen priming in mice. *Brain Behav Immunol* 4 : 1-12
- Moynihan JA, Brenner GJ, Cocks R, Karp JD, Brennan SM, Dopp JM, Ader R, Cohen N, Grota LJ, Felten SY(1994) : Stress-induced modulation of immune function in mice. In : Glaser R, Kiecolt-Glaser JK(ed), *Handbook of Human Stress and Immunity*. San Diego, Academic Press, pp1-22
- Okimura T, Nigo Y(1986) : Stress and immune responses. I. Suppression of T cell functions in restraint-stressed mice. *Japanese J Pharmacol* 4 : 505-511
- Raab A, Dantzer R, Michaud B, Mormede P, Taghzouti K, Simon H(1986) : Behavioral, physiological and immunological consequences of social status and aggression in chronically coexisting resident-intruder dyads of male rats. *Physiol Behav* 36 : 223-238
- Riley V(1981) : Psychoneuroendocrine influences on immunocompetence and neoplasia. *Science* 212 : 1100-1109
- Selye H(1950) : The physiology and pathology of exposure to stress. In : Asreita ME(ed) *The Physiology of Stress*. New York, Human Science Press
- Shavit Y, Lewis JW, Terman GW, Gale RT, Liebeskind (1984) : Opioid peptides mediate the suppressive effect of stress on natural killer cell activity. *Science* 223 : 188-190
- Sklar LS, Anisman H(1979) : Stress and coping factors influence tumor growth. *Science* 205 : 513-515
- Sklar LS, Anisman H(1981) : Stress and cancer. *Psychol Bull* 89 : 369-406
- Solomon GF(1969) : Stress and antibody responses in rats. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 35 : 97-104
- Taylor CE, Ross LL(1989) : Alternation of antibody response to pneumococcal polysaccharide type III in rats by neonatal immobilization stress. *Brain Behav Immunol* 3 : 160-170
- Weiss JM, Glaser HI, Pohorecky LA(1976) : Coping behavior and neurochemical changes. In : Serban G, King A(ed), *Animal Models in Human Psychology*. New York, Plenum, pp141-173
- Weiss JM, Sundar SK, Becker KJ, Cierpial MA(1989a) : Behavioral and neural influences on cellular immune response : Effects of stress and interleukin-1. *J Clin Psychiatry* 50 : 43-53
- Weiss JM, Sundar SK, Becker KJ(1989b) : Stress-induced immunosuppression and immunoenhancement : Cellular immune changes and mechanisms. In : Goetzl ED, Spector NH(ed), *Neuroimmune Networks : Physiology and Diseases*. New York, Alan R Liss, pp193-206
- Weiss JM, Sundar SK(1992) : Effects of stress on cellular immune responses in animals. In : Tsaman A, Riba MB(ed), *Review of Psychiatry*, vol 11. American Psychiatric Press, Washington DC, pp 145-168
- Williams JM, Peterson RG, Shea PA, Schmedtje JF, Bauer DC, Felten DL(1981) : Sympathetic innervation of murine thymus and spleen : evidence for a functional link between the nervous and immune systems. *Brain Res Bull* 6 : 83-94
- Zigmond M, Harvey J(1970) : Resistance to central norepinephrine depletion and decreased mortality in rats chronically exposed to electric footshock. *J Neurovisceral Relations* 31 : 373-381