

단기 고온 스트레스가 마우스 혈청 Cortisol, Dehydroepiandrosterone Sulphate 농도에 미치는 영향

차정호¹ · 최광수 · 최형승
우석대학교 이공대학 동물자원학과

Effects of Short-term Thermal Stress on the Mouse Serum Concentrations of Cortisol and Dehydroepiandrosterone Sulphate

Cha, J. H.¹, K. S. Choi and H. S. Choi

Department of Animal Resources Science, College of Natural Sciences & Engineering,
Woosuk University

ABSTRACT

This study was carried out to investigate the effect of short-term thermal stress on the serum concentrations of cortisol and DHEAS in BALB/c male mice. Cortisol and DHEAS concentrations in serum were measured by radioimmunoassay(RIA). We found there were significantly increased in the cortisol levels in 30 min-stressed group(T30) compared with control group($p < 0.01$), and then declined without significance in 120 min-stressed group(T120) compared with T30. By contrast, DHEAS levels were decreased without significance in both T30 and T120 compared with control group. Though short-term thermal stress, the continuous decline of DHEAS levels were observed. These results show that short-term thermal stress affects the serum levels of cortisol and DHEAS in mice. Furthermore, we found that DHEAS is a stress-related hormone and will be able to utilize as a stress marker.

(Key words : Short-term thermal stress, Dehydroepiandrosterone sulphate, Stress marker, Cortisol, Mouse)

I. 서 론

고온스트레스는 동물의 생리작용과 생산작용에 영향을 미치며, 고온으로 인한 체온상승은 수정란의 계속적인 성장을 감소시키는 등 세포기능에 대하여 직접적으로 좋지 않은 영향을 미칠 수 있다(Early 등, 1995; Edwards와 Hansen, 1996). 또한, 일정한 체온 유지를 위한 적응반응으로 피부혈관을 확장시켜 내장으로 가는 혈류를 피부 쪽으로 이동시키는데, 이러

한 반응이 외부로의 열 방출을 높이는 하나 임신한 동물에 있어 태반으로 가는 혈류량 또한 감소시킴으로써 태아의 성장을 지연시킬 수 있다는 보고가 있다(Alexander 등, 1987; Collier 등, 1982). Nevel(1997) 등은 홀스타인에 있어 발정기간이 겨울보다 여름이 더 짧다고 보고하였으며, 이전의 연구에서도 고온에 의한 발정기간의 감소에 대하여 명시된 바 있어(Monty와 Wolff, 1974; Abilay 등, 1975) 고온스트레스에 의해 번식기능의 감소가 일어날 수 있음을 보여주었다. 또한 Hahn(1985)은 고온스트레스는 가축

¹전북대학교 수의과대학(College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University)

의 작업능력을 감소시키며 음식의 섭취를 줄이고 유생산을 감소시키므로써 가축의 생산효율을 낮춘다고 보고하였다. Henry 등(1994)과 Koehl 등(1999)에 의하면 출생 전에 받은 스트레스에 의해 태아 Hypothalamus-Pituitary-Adrenal(HPA)계에 손상을 가져와 HPA기능을 변화시키는 등 모체의 스트레스가 자손에까지 영향을 미치는 것으로 보고된 바 있다. 이러한 고온에 의한 스트레스에 대하여 cortisol이나 ACTH 등의 호르몬 변화를 관찰한 보고는 있었으나, Dehydroepiandrosterone sulphate(DHEAS)의 변화를 관찰한 보고는 거의 없었다. DHEAS는 부신에서 가장 많이 분비되어지는 부신피질 호르몬으로서(Wisniewski 등, 1993) 성선에서 testosterone과 estrogen을 합성시키는 매개물질로서 작용하며(Wise 등, 1995), cortisol에 대한 길항작용을 가지고 있어 체내 면역력을 높여주는 역할을 수행한다(McLachlan 등, 1996). 따라서 여러 연구에서 고온스트레스에 의해 cortisol분비가 증가되었다고 보고된 바 있어(Roman-Ponce 등, 1981; Wise 등, 1988; Elvinger 등, 1992), DHEAS의 수준에도 변화가 있을 것으로 판단되어 본 연구를 실시하게 되었으며, 단기 고온스트레스를 받은 생쥐의 혈청내 cortisol과 DHEAS 수준을 측정함으로써 DHEAS의 스트레스에 대한 관련 호르몬으로써의 가능성 여부를 확인하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시동물

4주령된 BALB/c 숫컷 생쥐 50마리(18~20g)를 (주)대한실험동물센터로부터 구입하여 12시간 명암주기(08:00a.m/08:00p.m), 온도 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 일정환경에서 2주간 안정화시킨 후 실험에 임하였다. 이 기간 동안 그룹별로 나누어 사육하며 먹이와 물은 자유로이 섭취하도록 하였다.

2. 스트레스 부과

생쥐를 항온기에 넣어 고온스트레스(Thermal Stress; TS)를 부과하였다. 중간 유리문은 닫아주었으며, 빛이 들어가도록 바깥문은 개방한 상태에서 내부 온도를 Yamamoto 등(1999)의 연구에서 부과한 35.5°C 보다 높은 37°C 를 유지하였다. 스트레스 부과

시간은 30분과 120분으로, 30분 고온스트레스 부과군(T30, 10마리), 120분 고온스트레스 부과군(T120, 10마리)의 2그룹으로 나누어 부과하였고 이를 대조군(C, 10마리)과 비교하였다. 스트레스 부과는 14:00~16:00사이에 행하였으며 이 시간동안에는 실험군과 대조군 모두에게 먹이와 물을 주지 않았다.

3. 혈액 채취 및 혈청분리

단기 고온스트레스 부과가 끝난 생쥐를 즉시 경추 분리하여 회복한 후 심장에서 혈액을 채취하였다. 혈청을 얻기 위하여 채취한 혈액을 실온에서 약 1시간 정지한 후 4°C , 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리한 다음 상층액을 취하여 혈청을 분리하였다. 분리된 혈청은 실험군간의 변이를 최소화하기 위하여 분석일 까지 -70°C 에 보관하였다.

4. 혈청 DHEAS와 cortisol 분석

혈청 DHEAS농도를 DHEAS RIA kit(RADIM, Italia)를 이용하여 측정하였고, 혈청 cortisol농도는 cortisol RIA kit(RADIM, Italia)를 이용하여 측정하였다.

5. 통계적 분석

대조군과 실험군간의 혈청 DHEAS와 cortisol농도 차이에 대한 유의성 검정을 위해 Statistical Analysis System(SAS, 1992) 통계 package의 ANOVA 방법을 이용하여 유의성 검정과 Duncan's multiple test를 실시하였다.

III. 결 과

대조군(C)에 대한 단기 고온스트레스(Short-term Thermal Stress)를 받은 그룹간의 혈청 DHEAS와 cortisol 농도를 측정된 결과는 Table 1과 같다.

1. 단기 고온스트레스에 대한 혈청 DHEAS 농도 변화

단기 고온스트레스에 대하여 스트레스 부과군 모두에 있어서 대조군에 비해 유의성은 없으나 혈청 DHEAS 농도의 감소경향을 보였다.

Table 1에서 보는 바와 같이 단기 고온스트레스를

Table 1. Comparison of serum DHEAS and cortisol concentrations between Control group and Short-term thermal stressed groups

Group ¹	Serum concentrations	
	DHEAS($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Cortisol(ng/ml)
C	5.33 \pm 0.76	4.68 \pm 1.28 ^a
T30	4.92 \pm 0.90	7.17 \pm 1.66 ^b
T120	4.72 \pm 0.68	5.49 \pm 1.00 ^{ab}

^{a,b}Means \pm SEM within a column with different superscripts differ ($p < 0.01$).

¹Abbreviations are C : control group, T30 : thermal stress for 30min., T120 : thermal stress for 120min.

받은 그룹에 있어 대조군 5.33 \pm 0.76 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에 비해 30분 부과그룹(T30) 4.92 \pm 0.90 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 120분 부과그룹(T120) 4.72 \pm 0.68 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 스트레스 부과시간이 길어짐에 따라 혈청 DHEAS 농도가 유의성은 없으나 지속적인 감소 경향을 보였다.

2. 단기 고온스트레스에 대한 혈청 cortisol 농도 변화

단기 고온스트레스에 대하여 스트레스 부과군 모두에 있어서 대조군에 비해 전체적인 혈청 cortisol 농도의 증가경향을 보였다. 그러나 Table 1에서 보여지는 바와 같이 대조군 4.68 \pm 1.28 ng/ml 에 대하여 30분 부과(T30)시 7.17 \pm 1.66 ng/ml 으로 유의적으로 증가($p < 0.01$)하다 120분 부과(T120)시 5.49 \pm 1.00 ng/ml 로 유의성 없이 감소되어 지속적인 증가를 보이지는 않았다.

IV. 고찰

단기간의 고온스트레스에 대한 내분비 변화를 조사한 결과, 단기 고온스트레스를 받은 생쥐에서 대조군에 비해 증가된 cortisol 수준을 관찰할 수 있었으며, 이는 Wise 등(1988)과 Elvinger 등(1992)의 연구에서 고온스트레스의 결과로 cortisol의 증가가 일어났다고한 보고와 일치하였다. 이와는 대조적으로 고온스트레스에 대하여 대조군에 대한 DHEAS의 감소를 관찰할 수 있었고, 이러한 결과는 Parker(1999)와

Kimionides 등(1998)이 보고한 부신에서 스트레스에 반응하여 DHEAS가 감소되었다고 한 연구 결과와 일치하였다. 이는 부신에서 즉각적인 스트레스상황에 대응하기 위해 중요 장기인 뇌, 심장, 근육으로 가는 혈류를 증가시키고, 외부자극에 대처하기 위한 추가 에너지 공급을 위해 혈 중에 당, 지방 콜레스테롤 양을 증가시키는 cortisol의 생성을 높여줌으로써 상대적인 DHEAS생성의 감소가 일어나 시간이 경과함에 따른 DHEAS의 감소현상을 일으킨 것으로 사료되어진다. 또한 스트레스 부과시간에 따른 내분비 변화를 관찰한 결과, 부과시간이 길어짐에 따라 혈 중 cortisol 수치가 증가하다 감소되어지는 경향을 보였는데, 이는 계속되는 고온 스트레스에 대한 항상성 유지작용에 의해 처음의 스트레스 노출 상황에 비하여 적응되어진 상태를 나타낸 것으로 사료되어진다. 이에 반해 DHEAS의 경우 대조군에 비하여 스트레스 부과시간이 길어짐에 따라 DHEAS 농도가 지속적으로 감소되는 경향을 보였다. 이러한 결과를 통하여 단기 고온스트레스가 혈 중 DHEAS와 cortisol에 영향을 미치고 있으며, 부신피질 호르몬인 DHEAS의 단기 고온스트레스 반응에 의한 변화가 관찰됨으로써 cortisol과 더불어 스트레스 관련 호르몬임을 확인할 수 있었다. 본 연구에서 주목할 만한 결과 중 하나는 단기간의 고온스트레스임에도 불구하고 DHEAS의 지속적인 감소를 관찰할 수 있었다는 것이다. 이는 대부분의 연구에서 스트레스 관련 호르몬으로써 여러 가지 내분비 물질이 보고되어졌으나, DHEAS를 관찰한 결과는 거의 없었으므로, 본 연구가 이에 대한 기초적 자료로써 의의가 있을 것으로 생각되어지며, DHEAS를 이용하여 스트레스 정도를 확인할 경우 보다 정확한 결과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

V. 요약

단기 고온스트레스가 혈청 cortisol, DHEAS농도에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 단기 고온스트레스(Short-term TS)를 받은 BALB/c 생쥐의 혈청 cortisol과 DHEAS농도를 방사선면역측정(RIA)을 이용하여 분석하였다. 그 결과 30분 TS를 받은 그룹(T30)에서 대조군에 비해 cortisol의 유의적인 증가($P < 0.01$)를 보였으나, 120분 부과(T120)시에는

T30에 비해 유의성 없는 감소를 나타내었다. 이에 반해 DHEAS의 경우 30분 TS를 받은 그룹(T30)과 120분 TS를 받은 그룹(T120) 모두에서 대조군에 비해 유의성은 없으나 감소된 경향을 보였다. 특히, DHEAS의 경우 단기고온 스트레스라는 국한된 스트레스에도 불구하고 지속적인 감소를 나타내었다. 이러한 결과로 보아 단기 고온스트레스가 혈청 cortisol과 DHEAS농도에 영향을 미치고 있음을 확인할 수 있었다. 또한, 본 연구를 통하여 DHEAS가 스트레스 관련 호르몬임을 확인할 수 있었으며, 스트레스 마커로서 이용될 수 있을 것으로 판단되어진다.

VI. 인용문헌

1. Abilay, T. A., H. D. Johnson and M. Madan. 1975. Influence of environmental heat on peripheral plasma progesterone and cortisol during the bovine estrous cycle. *J. Dairy Sci.*, 58(12):1836-1840.
2. Alexander, G., J. R. Hales, D. Stevens and J. B. Donnelly. 1987. Effects of acute and prolonged exposure to heat on regional blood flows in pregnant sheep. *J. Dev. Physiol.*, 9(1):1-15.
3. Collier, R. J., S. G. Doelger, H. H. Head, W. W. Thatcher and C. J. Wilcox. 1982. Effects of heat stress during pregnancy on maternal hormone concentrations, calf birth weight and postpartum milk yield of Holstein cows. *J. Anim. Sci.*, 54(2):309-319.
4. Ealy, A. D., J. L. Howell, V. H. Monterroso, C. F. Arechiga and P. J. Hansen. 1995. Developmental changes in sensitivity of bovine embryos to heat shock and use of antioxidants as thermoprotectants. *J. Anim. Sci.*, 73(5):1401-1407.
5. Edwards, J. L., and P. J. Hansen. 1996. Elevated temperature increases heat shock protein 70 synthesis in bovine two-cell embryos and compromises function of maturing oocytes. *Biol. Reprod.*, 55(2):341-346.
6. Elvinger, F., R. P. Natzke and P. J. Hansen. 1992. Interactions of heat stress and bovine somatotropin affecting physiology and immunology of lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 75(2):449-462.
7. Hahn, G. L. 1985. Management and housing of farm animals in hot environments. *In*: M. Yousef (Ed.) *Stress Physiology in Livestock*. CRC Press, Boca Raton, FL. (Vol.2). pp 151-174.
8. Henry, C., M. Kabbaj, H. Simon, L. M. Moal and S. Maccari. 1994. Prenatal stress increases the hypothalamo-pituitary-adrenal axis response in young and adult rats. *J. Neuroendocrinol.*, 6(3):341-345.
9. Kimonides, V. G., N. H. Khatibi, C. N. Svendsen, M. V. Sofroniew and J. Herbert. 1998. Dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA-sulfate (DHEAS) protect hippocampal neurons against excitatory amino acid-induced neurotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A.*, 95(4):1852-1857.
10. Koehl, M., M. Darnaudery, J. Dulluc, V. O. Reeth, L. M. Moal and S. Maccari. 1999. Prenatal stress alters circadian activity of hypothalamo-pituitary-adrenal axis and hippocampal corticosteroid receptors in adult rats of both gender. *J. Neurobiol.*, 40(3):302-315.
11. McLachlan, J. A., C. D. Serkin and O. Bakouche. 1996. Dehydroepiandrosterone modulation of lipopolysaccharide-stimulated monocyte cytotoxicity. *J. Immunol.*, 156(1):328-335.
12. Monty, D. E. and L. K. Wolff. 1974. Summer heat stress and reduced fertility in Holstein-Friesian cows in Arizona. *Am. J. Vet. Res.*, 35(12):1495-1500.
13. Nevel, R. L., S. M. Jobst, M. B. G. Dransfield, S. M. Pandolfi and T. L. Bailey. 1997. Use of radio frequency data communi-

- cation system, HeatWatch, to describe behavioral estrus in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 80(Suppl. 1):179(Abstr.).
14. Parker, C. R. 1999. Dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate production in the human adrenal during development and aging. *Steroids*, 64(9):640-647.
 15. Roman-Ponce, H., W. W. Thatcher and C. J. Wilcox. 1981. Hormonal interrelationships and physiological responses of lactating dairy cows to a shade management system in a subtropical environment. *Theriogenology*, 16:139-154.
 16. SAS. 1992. SAS/STAT Software for PC. Release 6.12, SAS Institute, Cary, NC, U.S. A.
 17. Wise, M. E., D. V. Armstrong, J. T. Huber, R. Hunter and F. Wiersma. 1988. Hormonal alterations in the lactating dairy cow in response to thermal stress. *J. Dairy Sci.*, 71(9):2480-2485.
 18. Wisniewski, T. L., C. W. Hilton, E. V. Morse and F. Svec. 1993. The relationship of serum DHEA-S and cortisol levels to measures of immune function in human immunodeficiency virus-related illness. *Am. J. Med. Sci.*, 305(2):79-83.
 19. Yamamoto, S., M. Ando and E. Suzuki. 1999. High-temperature effects on antibody response to viral antigen in mice. *Exp. Anim.*, 48(1):9-14.
- (접수일자 : 2000. 1. 21. / 채택일자 : 2000. 3. 15.)