

## 단기 속박스트레스가 마우스 혈청 Cortisol, Dehydroepiandrosterone Sulphate 농도에 미치는 영향

차정호<sup>1</sup> · 최광수 · 최형승

우석대학교 이공대학 동물자원학과

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

Cha, J. H.<sup>1</sup>, K. S. Choi and H. S. Choi

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

#### ABSTRACT

We have investigated the effect of short-term immobilization stress on the serum concentrations of cortisol and DHEAS in BALB/c male mice. Serum cortisol and DHEAS concentrations were measured by radioimmunoassay(RIA). We found there were significantly increased in the cortisol levels in 30 min-stressed group(I-30N) compared with control(C) group ( $p<0.01$ ), and also increased with significance in 120 min-stressed group(I-120N) compared with C group( $p<0.01$ ). Cortisol concentrations were significantly increased in both 30 min-stressed group(I-30T), and 120 min-stressed group(I-120T) compared with C group( $p<0.01$ ). The sustained increase of cortisol levels were observed in both SG treated and SG non-treated group. Serum cortisol levels were lower in SG treated group than SG non-treated group with significance( $p<0.01$ ). By contrast, DHEAS levels were slightly decreased without significance in I-30N, but significantly decreased in I-120N compared with C group( $p<0.01$ ). There were slightly decreased in the DHEAS levels in I-30T, but significantly decreased in I-120T compared with C group( $p<0.01$ ).

However, SG treatment did not induce any significant changes of DHEAS levels in both 30 min and 120 min-stressed group. Though short-term immobilization stress, the continuous decline of DHEAS levels were observed. Therefore, these results show that short-term immobilization stress affects the serum concentrations of cortisol and DHEAS in mice.

(Key words : Immobilization stress, Dehydroepiandrosterone sulphate, Stress marker, Cortisol, Mouse)

---

<sup>1</sup> 전북대학교 수의과대학(College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University)

## I. 서 론

속박스트레스는 가축에 있어 먹이와 물의 섭취를 현저하게 감소시킴(Michajlovskij 등, 1988)으로써 성장과 발달에 좋지 않은 영향을 미칠 수 있으며, 성호르몬인 testosterone 분비를 감소시킬 수 있다고 보고된 바 있다(Armario와 Castellanos, 1984; Orr 등, 1994; Srivastava 등, 1993). 이러한 결과는 Yazawa 등(1999)의 최근 연구에서도 보고된 바 있는데, 속박스트레스에 대한 영향으로 일시적인 혈청 corticosterone의 증가와 testosterone의 감소가 일어났으며, 생식세포의 apoptosis를 증가시킴으로써 생식세포에 영향을 미친다고 하였다. Liu 등(1996)은 속박스트레스에 의해 대뇌피질, 소뇌, 해마상 용기 그리고 중뇌에서의 지질 과산화화 현저히 증가되었으며, 대뇌피질, 시상하부 등에서의 단백질 과산화화 증가되었다고 하였고, 뇌 전체부위에서 DNA의 산화적 손상이 증가되었다고 보고함으로써 속박스트레스가 뇌 기능에 영향을 미칠 수 있다고 하였다. 속박스트레스에 의해 생명체는 여러 가지 생리적 변화를 일으키게 되는데, Katiukhin과 Maslova(1984)에 의하면 속박스트레스를 받은 쥐에서 적혈구와 세포내 염분이 감소되었다고 보고하였으며, Turakulov 등(1993)은 단기 속박스트레스를 받은 쥐에 있어 갑상선 호르몬인 triiodothyronine(T3)과 thyroxine(T4)의 분비가 증가되었다고 보고하였다. Kuriyama 등(1998)은 속박스트레스를 받은 마우스에서 백혈구와 호중구 수가 유의적으로 증가되었고, 림프구 수의 유의적인 감소가 관찰되었으며, CK(creatine kinase), GOT(glutamic-oxaloacetic transaminase), GPT(glutamic-pyruvic transaminase), LDH(lactate dehydrogenase) 등이 증가된 반면, ALP(alkaline phosphatase)의 감소현상이 나타났다고 보고하였다. 또한, 암세포를 이식 받은 쥐에게 속박스트레스를 부과한 결과 치사율이 증가되었다는 결과가 보고(Mazur-Kolecka 등, 1994)된 바 있어 속박스트레스가 생명체에 좋지 않은 영향을 미치고 있음을 알 수 있다. 이러한 속박스트레스 측정을 위한 기존의 연구들에서 많은 호르몬변화를 관찰하였으나, 부신피질 호르몬인 dehydroepiandrosterone sulphate(DHEAS)의 변화를 관찰한 결과는 거의 없었다. 의

부의 자극에 의해 시상하부-뇌하수체-부신(Hypothalamus-Pituitary-Adrenal)계의 활성화로 부신에서는 여러 가지 호르몬이 분비된다. DHEAS는 cortisol과 더불어 부신피질에서 가장 많이 분비되는 호르몬(Parker, 1999)임으로 단기 속박스트레스에 대한 변화가 있을 것으로 판단된다. 그러므로, 본 연구에서는 단기 속박스트레스를 받은 생쥐의 혈청내 cortisol과 DHEAS수준을 측정함으로써 DHEAS의 단기 속박스트레스에 대한 반응 여부를 알아보고자 하였으며, 스트레스에 대한 저항성을 높여주는 항 스트레스성 물질을 찾고자 하였다. *Eleutherococcus senticosus*의 뿌리인 가시오갈피(Siberian Ginseng : SG)는 원기를 돋우며 진정작용이 있어 동양에서 치료제로 이용되어 왔고, 외부 영향에 대한 체내 저항성을 증가시키는 작용이 있다고 보고(Hikino 등, 1986)된 바 있다. 따라서 가시오갈피를 먹인 생쥐에서의 내분비 변화를 관찰함으로써 SG의 단기 속박스트레스에 대한 항 스트레스 물질로서의 가능성을 알아보고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시동물

4주령된 BALB/c 숫컷 생쥐(18~20g) 40마리를 12시간 명암주기(08:00AM~08:00PM)와  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  온도 하에서 2주간 안정화하도록 사육환경을 유지시켰고, 각 그룹별로 나누어 사육하며 먹이와 물은 자유 급식토록 하였다. 가시오갈피(SG) 처리군은 SG원액(200mg/ml)을 음수에 0.16mg/ml로 희석하여 3주간 급여하였다.

### 2. 스트레스 부과

생쥐의 사지를 반창고로 묶고 나무판자에 등이 닿도록 하여 반창고 여부를 압정으로 고정시켜 속박스트레스(Immobilization Stress : I-)를 부과하였다. 또한 머리와 꼬리의 움직임을 억제하기 위하여 턱밑과 꼬리의 중간 부분을 반창고로 보정하여 움직임을 최소화시켰다.

스트레스 부과시간은 30분과 120분으로 SG 처리군(SG treatment : T)과 SG 비처리군(SG non-treatment : N)으로 분류하여 30분 SG 비처리군(I-30N, 10마리), 30분 SG 처리군(I-30T, 10마리), 120분 SG

비처리군(I-120N, 5마리), 120분 SG 처리군(I-120T, 5마리)의 4그룹으로 나누어 부과하였고 이를 대조군(Control group : C, 10마리)과 비교하였다. 스트레스 부과는 14:00~16:00사이에 행하였으며 이 시간동안에는 실험군과 대조군 모두에게 급식을 중단하였다.

### 3. 혈액 채취 및 혈청분리

스트레스 부과가 끝난 직후 생쥐를 경추 분리하여 회복한 후 심장에서 혈액을 채취하였다.

채취된 혈액으로부터 혈청을 얻기 위해 혈액을 실온에서 약 1시간 정지한 후 4℃, 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 혈청을 분리해 내었다. 분리된 혈청은 실험군간의 변이를 최소화하기 위하여 분석일까지 -70℃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 속박스트레스(IS)를 받은 그룹간의 혈청 DHEAS와 cortisol 농도를 측정한 결과는 Table 1과 같다.

### 1. 단기 속박스트레스에 대한 혈청 DHEAS 농도 변화

단기 속박스트레스에 대하여 가시오갈피(SG) 처리군과 비처리군 모두에 있어서 대조군에 비해 전체적인 혈청 DHEAS 농도 감소경향을 보였으나, 30분 스트레스 부과그룹에서는 통계적인 유의차이를 보이지 않았다. SG 비처리군에서 대조군  $5.33 \pm 0.76 \mu\text{g/ml}$

에 대하여 30분 스트레스 부과(I-30N)시  $4.33 \pm 0.71 \mu\text{g/ml}$ 로 유의성 없는 감소 경향을 보였으나, 120분 부과(I-120N)시  $3.71 \pm 1.48 \mu\text{g/ml}$ 로 유의적인 감소를 나타내었다( $p < 0.01$ ). SG 처리그룹에서도 대조군  $5.33 \pm 0.76 \mu\text{g/ml}$ 에 대하여 30분 스트레스 부과(I-30T)시  $4.41 \pm 0.49 \mu\text{g/ml}$ 로 유의성 없는 감소 경향을 보였으나, 120분 부과(I-120T)시에는  $3.48 \pm 0.29 \mu\text{g/ml}$ 로 유의적인 감소를 나타내었다( $p < 0.01$ ). 그러나 30분과 120분 스트레스 부과그룹 모두에서 그룹 내 SG 처리에 대한 통계적 차이는 보이지 않았다.

### 2. 단기 속박스트레스에 대한 혈청 cortisol 농도 변화

Table 1에서 보여지는 바와 같이 단기 속박스트레스에 대하여 가시오갈피(SG) 처리군과 비처리군 모두에 있어서 대조군에 비해 혈청 cortisol 농도의 현저한 증가를 보였다( $p < 0.01$ ).

SG 비처리군에서 대조군  $4.68 \pm 1.28 \text{ ng/ml}$ 에 대하여 30분 스트레스 부과(I-30N)시  $12.29 \pm 0.95$

**Table 1. Comparison of serum DHEAS and cortisol concentrations between Control group and Immobilization stressed groups**

Group <sup>1</sup>	Serum concentrations	
	DHEAS( $\mu\text{g/ml}$ )	Cortisol( $\text{ng/ml}$ )
C	$5.33 \pm 0.76^a$	$4.68 \pm 1.28^a$
I-30N	$4.33 \pm 0.71^{ab}$	$12.29 \pm 0.95^{bd}$
I-30T	$4.41 \pm 0.49^{ab}$	$10.25 \pm 1.47^c$
I-120N	$3.71 \pm 1.48^b$	$13.40 \pm 1.05^d$
I-120T	$3.48 \pm 0.29^b$	$11.24 \pm 1.42^{bc}$

<sup>a,b</sup> Means $\pm$ SEM within a column(DHEAS) with different superscripts differ ( $p < 0.01$ )

<sup>a,b,c,d</sup> Means $\pm$ SEM within a column(cortisol) with different superscripts differ ( $p < 0.01$ )

<sup>1</sup> Abbreviations are C : control group, I-30N : SG non-treatment(immobilization stress for 30 min.), I-30T : SG treatment(immobilization stress for 30 min.), I-120N : SG non-treatment(immobilization stress for 120 min.), I-120T : SG treatment(immobilization stress for 120 min.)

ng/ml로 현저한 증가를 보였고( $p < 0.01$ ), 120분 부과(I-120N)시  $13.40 \pm 1.05$  ng/ml로 증가하였다. SG 처리군에도 대조군  $4.68 \pm 1.28$  ng/ml에 대하여 30분 스트레스 부과(I-30T)시  $10.25 \pm 1.47$  ng/ml로 현저한 증가를 보였고( $p < 0.01$ ), 120분 부과(I-120T)시  $11.24 \pm 1.42$  ng/ml로 증가하였다. 가시오갈피(SG) 처리에 대한 변화를 관찰한 결과, 30분 스트레스 부과그룹에서 비처리군(I-30N)  $12.29 \pm 0.95$  ng/ml에 비하여 처리군(I-30T)  $10.25 \pm 1.47$  ng/ml로 유의적 감소를 나타내었으며( $p < 0.01$ ), 120분 스트레스 부과그룹에도 비처리군(I-120N)  $13.40 \pm 1.05$  ng/ml에 비하여 처리군(I-120T)  $11.24 \pm 1.42$  ng/ml의 농도로 유의적 차이( $p < 0.01$ )를 보여 스트레스로 인한 과다한 cortisol 분비의 억제를 관찰할 수 있었다.

#### IV. 고찰

생명체는 외부로부터 강한 충격이나 자극이 가해졌을 경우 이로부터 자신을 보호하기 위해 시상하부에서 corticotropin releasing hormone(CRH)을 분비하고 이는 뇌하수체 전엽에 전달되어 adrenocorticotropin hormone(ACTH)을 방출케 한다. 이렇게 분비된 ACTH는 부신피질에서의 cortisol과 DHEAS의 분비를 일으키게 된다(Axelrod와 Reisine, 1984; Rivier와 Vale, 1987). 단기 속박스트레스를 받은 생쥐에서 공통적으로 DHEAS의 감소와 cortisol의 증가를 관찰할 수 있었는데, 이는 Parker등(1985)의 연구에서 스트레스에 의해 부신피질에서 DHEAS의 감소와 cortisol의 증가가 일어났다고 한 결과와 일치하였으며, 이는 DHEAS와 cortisol의 전구물질인 Pregnenolone의 대사가 mineralocorticoids와 adrenal androgens의 경로를 떠나 glucocorticoids 경로로 이동함으로써 일어난다고 하였으나 정확한 원인은 아직 밝혀지지 않고 있다. 이러한 현상은 스트레스 부과정도에 따라 뚜렷한 변화를 보여, DHEAS의 경우 대조군에 비하여 스트레스 부과시간이 길어짐에 따라 혈 중 DHEAS농도가 감소되는 경향을 보였고, cortisol의 경우 대조군에 비하여 스트레스 부과시간이 증가함에 따른 혈중 cortisol농도의 증가를 보였다. 과량의 cortisol분비는 부신피질 비대 및

면역계의 억압을 초래할 수 있으며, 임신한 생물에 있어 태반을 넘어 태아에까지 영향을 미칠 수가 있다. 따라서 스트레스에 의한 호르몬 과분비를 억제하는 물질 개발을 위해 생쥐에게 3주간 가시오갈피를 음수 투여한 후 단기 속박스트레스에 대한 내분비 변화를 관찰한 결과, 단기 속박스트레스 하에서 혈 중 DHEAS수준에는 유의적 변화를 주지 못했으나 cortisol수준에 있어 증가를 억제하는 작용을 관찰할 수 있었다( $p < 0.01$ ). 이러한 결과로 보아 스트레스 상황 시 필요 이상의 cortisol분비를 억제하므로 항 스트레스 물질로서의 작용이 있는 것으로 사료된다. 본 연구를 통하여 단기 속박스트레스가 혈 중 DHEAS와 cortisol에 영향을 미치고 있으며, 스트레스에 대한 cortisol의 반응처럼 부신피질 호르몬인 DHEAS 또한 스트레스에 반응함으로써 스트레스 측정에 간접적인 지표로서 이용될 수 있을 것으로 사료된다. 또한 가시오갈피가 스트레스 억제에 효과가 있음을 보여주어 이를 통하여 항 스트레스 물질로서의 효과를 기대할 수 있게 되었다.

#### V. 요약

단기 속박스트레스가 혈청cortisol과 DHEAS 농도에 미치는 영향을 알아보고자 단기 속박스트레스(IS)를 받은 BALB/c 숫컷 생쥐의 혈청 cortisol과 DHEAS농도를 방사선면역측정(RIA)을 이용하여 분석하였다. 그 결과 cortisol의 경우 30분 IS를 받은 그룹(I-30N)에서 대조군에 비해 유의적인 증가를 보였으며( $p < 0.01$ ), 120분 부과(I-120N) 시에도 대조군에 비해 유의적인 증가를 보였다. 가시오갈피(SG) 처리군에서도 30분 IS를 받은 그룹(I-30T)에서 대조군에 비해 유의적 증가를 보였고( $p < 0.01$ ), 120분 부과(I-120T) 시에도 대조군에 비해 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다. SG 처리군과 비처리군 모두에서 cortisol의 계속적인 증가를 관찰할 수 있었다. 30분 부과 그룹에서 SG 비처리군(I-30N)에 비해 SG 처리군(I-30T)에서 cortisol농도의 유의적인 감소를 나타내었고, 120분 부과 그룹에서도 SG 비처리군(I-120N)에 비해 SG 처리군(I-120T)에서 cortisol농도의 유의적인 감소를 나타내었다. 이에 반해, DHEAS의 경우 30분 속박(I-30N) 시 대조군에 비해 유의성 없는 감소 경향을 보였으나, 120분 속박(I-120N) 시 대조

군에 비해 유의적인 감소를 나타내었다( $p < 0.01$ ). SG 처리군에서도 30분 속박(I-30T) 시 대조군에 비해 유의성 없는 감소 경향을 보였으나, 120분 속박(I-120T) 시 대조군에 비해 유의적인 감소를 나타내었다( $p < 0.01$ ). 그러나 30분, 120분 부과그룹 모두에서 SG 처리에 대한 유의적 차이는 없었다. 따라서 본 연구를 통하여 단기 속박이라는 국한된 스트레스에도 불구하고 DHEAS가 지속적으로 감소됨으로써 단기 속박스트레스가 혈청 cortisol과 DHEAS에 영향을 미치고 있음을 알 수 있었으며, 이를 통하여 DHEAS가 스트레스 관련 호르몬임을 확인할 수 있었다.

## VI. 인용문헌

1. Armario, A. and J. M. Castellanos. 1984. A comparison of corticoadrenal and gonadal responses to acute immobilization stress in rats and mice. *Physiol. Behav.*, 32(4):517-519.
2. Axelrod, J. and T. D. Reisine. 1984. Stress Hormones: Their Interaction and Regulation. *Science*, 224:452-458.
3. Hikino, H., M. Takahashi, K. Otake and C. Konno. 1986. Isolation and hypoglycemic activity of eleutherans A, B, C, D, E, F, and G: glycans of *Eleutherococcus senticosus* roots. *J. Nat. Prod.*, 49(2):293-297.
4. Katiukhin, L. N. and M. N. Maslova. 1984. Dynamics of changes in red blood in rats during acute immobilization. *Kosm. Biol. Aviakosm. Med.*, 18(3):43-47.
5. Kuriyama T., K. Oishi, H. Kakazu and K. Machida. 1998. Changes of physiological functions in rats induced by immobilization stress. *Nippon Eiseigaku Zasshi*, 52(4):647-653.
6. Liu, J., X. Wang, M. K. Shigenaga, H. C. Yeo, A. Mori and B. N. Ames. 1996. Immobilization stress causes oxidative damage to lipid, protein, and DNA in the brain of rats. *The FASEB. Journal*, 10:1532-15388.
7. Mazur-Kolecka, B., O. Machala, A. Skowron-Cendrzak, M. Kubera, M. Bubak-Satora, A. Basta-Kaim and A. Roman. 1994. Effect of immobilization stress on tumor growth in mice. *Neoplasma*, 41(3):183-186.
8. Michajlovskij, N., B. Lichardus, R. Kvetnansky and J. Ponec. 1988. Effect of acute and repeated immobilization stress on food and water intake, urine output and vasopressin changes in rats. *Endocrinol. Exp.*, 22(3):143-157.
9. Parker, L. N., E. R. Levin and E. T. Lifrak. 1985. Evidence for adrenocortical adaptation to severe illness. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 60(5):947-952.
10. Parker, C. R. 1999. Dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate production in the human adrenal during development and aging. *Steroids*, 64(9):640-647.
11. Rivier, C. and W. Vale. 1987. Diminished responsiveness of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of the rat during exposure to prolonged stress: a pituitary-mediated mechanism. *Endocrinology*, 121(4):1320-1328.
12. SAS. 1992. SAS/STAT Software for PC. Release 6.12, SAS Institute, Cary, NC, U.S.A.
13. Srivastava, R. K., M. F. Taylor and D. R. Mann. 1993. Effect of immobilization stress on plasma luteinizing hormone, testosterone, and corticosterone concentrations and on 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in the testes of adult rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 204(2):231-235.
14. Turakulov, I. K., R. B. Burikhanov, P. P. Patkhitdinov and A. I. Myslitskaia. 1993. Effect of immobilization stress on the level of thyroid hormone secretion. *Probl. Endocrinol. (Mosk)*, 39(5):47-48.
15. Yazawa, H., I. Sasagawa, M. Ishigooka and T. Na kada. 1999. Effect of immobilization

stress on testicular germ cell apoptosis in  
rats. Hum. Reprod., 14(7):1806-1810.

(접수일자 : 2000. 1. 21. / 채택일자 : 2000. 3. 15.)