

담즙산류의 항스트레스 효능에 관한 연구

조태순* · 이종찬 · 조성익 · 이선미

성균관대학교 약학대학

A Study on Anti-Stress Activities of Cholic Acid Derivatives

Tai-Soon CHO*, Jong-Chan LEE, Sung-Ig CHO and Sun-Mee LEE

College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-776, Korea

(Received June 24, 1998; accepted August 10, 1998)

Abstract—This study was done to investigate whether cholic acid derivatives have anti-stress activity in various stress models. Two cholic acid derivatives, ursodeoxycholic acid (UDCA) and tauroursodeoxycholic acid (TUDCA), were used. Physical, psychological, chemical and environmental stress models were performed. Adrenal weight, serum glucose levels and ALP activity were elevated in restraint stress model, but this elevation was prevented by UDCA treatment. Moreover, UDCA and TUDCA inhibited exploratory and spontaneous movements in oscillation stress model. In alcohol-induced stress model, TUDCA improved rotarod performance. UDCA and TUDCA significantly reduced the involution of lymphoid organs and the increment of WBC counts in cold stress model. These findings suggest that cholic acid derivatives have anti-stress effects in various stress models.

Keywords □ cholic acid derivatives, anti-stress activity, various stress models

스트레스란 생체에 미치는 여러 가지 자극으로, 생체는 이런 신체적인 변화를 유발하는 자극에 대하여 항상성을 유지하기 위하여 여러 저항반응을 나타내게 된다. 스트레스란 여러가지 질병이 있는 경우에도 나타나지만 보통 일상적인 생활에서도 누구나 흔히 느낄 수 있는 증상이다. 일반적으로 생체에 미치는 자극이 일정한 정도 이상이 될 경우 상대적으로 작용하는데, 이때 생체는 그 자극의 종류에 관계없이 일정한 위협에 대한 반응으로 중추신경계(Glavin 등, 1985)를 비롯한 면역계(David 등, 1990), 소화기계 및 심혈관계(Selye, 1983)에 작용하여 긴장성 두통, 편두통, 고혈압, 소화불량, 피로, 통증, 발모, 피부의 거칠어짐을 일으키고, 만성적으로 지속되면 각종 신경증, 위궤양 등을 유발시키는 등의 비특이적인 전신적 증후군(general adaptative syndrome)을 나타내지만 이는 환경변화에 대한 항상성 유지를 위한 생체의 조절과정(Selye, 1958)이라고 할 수 있다.

스트레스는 그 작용양식에 따라 신체적, 정신적, 물질적 및 환경적으로 나눌 수 있으나, 그에 대한 반응은 주로 시상하부-뇌하수체-부신계의 기능항진에 의해 모든 반응이 매개되며 정동반응을 일으키는 것과 동시에 운동기능 및

자율기능에도 영향을 미친다고 한다(Selye, 1950; Chowers 등, 1967; Hodges 등, 1976; Laurel 등, 1989). 즉 외부로부터의 자극은 대뇌의 변연계(limbic system)에 영향을 주며 이는 뇌하수체로부터 ACTH의 분비를 자극하고, 이것은 부신피질을 자극하여 ascorbic acid의 소비와 corticosterone의 생합성을 촉진하여 부신의 비대 및 혈중에서의 amino acid, glucose의 농도 증가와 지방산의 분비를 촉진하거나 면역장기의 위축 및 효소의 활성이 증가하게 되는 등의 여러 가지 생체반응을 나타내게 된다(Cho 등, 1995; Park 등, 1996).

최근 스트레스에 대한 반응을 억제시키는 약물의 검색이 활발하게 이루어지고 있으며, 이중 현재 간질환에 널리 사용되고 있는 약물인 ursodeoxycholic acid(이하 UDCA)는 수침구속스트레스에 의해 유발된 케양과 위점막의 지질과 산화를 억제시키고(Kawamura 등, 1989; Cho 등, 1995), 수침구속스트레스에 항스트레스 작용을 나타내며(Cho 등, 1995), 이러한 스트레스 작용은 일부 담즙산류의 이담작용에 기인된다고 한다(Park 등, 1996).

그러나 약물의 항스트레스 작용의 평가에 있어서 한가지의 실험방법 하에서 이를 규명하는 것은 여러 가지 스트레스 요인에 의해 발생할 수 있는 다양한 생체변화에 대하여 많은 부분을 설명할 수 없으므로, 이에 본 연구에서는 여러

* To whom correspondence should be addressed.

다양한 스트레스 모델을 사용하여 담즙산류의 항스트레스 작용을 알아보고자 하였다.

실험재료 및 방법

실험동물

실험동물은 체중 190~220 g의 Sprague-Dawley계 음성 흰쥐와 20~25 g의 ICR계 음성 생쥐를 제일상사로부터 공급받아 항온, 항습이 유지되는 본 대학 동물사육실에서 일주일 이상 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 사육환경은 동물실 내의 명암을 12시간으로 자동조절시켰으며 온도는 22±3℃, 습도는 50±14%로 유지하였고 삼양사(주)의 사료를 급식하였으며 물은 자유롭게 섭취토록 하였다.

실험재료

약물로는 대표적 담즙산류인 UDCA 및 TUDCA를 Sigma Chemical Co.(U.S.A.)에서 구입하여 사용하였다. 투여용량은 두 용량 모두 0.07 mmol/kg의 용량으로 0.5% carboxymethylcellulose(이하 CMC)에 현탁하여 사용하였으며, 스트레스 유발군은 0.5% CMC만을 투여하였다.

실험방법

가. 신체적 스트레스

(1) 수침구속스트레스

스트레스의 부과 - 24시간 동안 절식시킨 흰쥐를 stress cage(Natume, Japan)에 넣고 18±1℃의 물에 1/3정도 담근 후 실온(24±2℃)에서 24시간 절식절수 상태로 방치한 후 동물을 희생시켰다. 약물은 스트레스 부과 2시간 전, 스트레스 부과 후 4, 19시간에 경구투여하였다(Cho 등, 1995; Park 등, 1996).

장기 무게의 측정 - 흰쥐의 복부를 절개하여 비장을 적출하고 장기 주위를 둘러싸고 있는 지방조직을 제거한 후 무게를 측정하였다. 부신도 적출한 후 피막을 완전히 제거하였으며 양쪽 부신을 합하여 무게를 측정하였다.

부신내 ascorbic acid 함량 변화 - 무게가 측정된 부신을 5% TCA 용액 1 ml를 넣고 약 30초간 균질화시킨 다음, 이 용액을 원심분리용 튜브에 넣어 15,000 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 상등액 0.5 ml를 취하여 5% TCA 용액으로 적당히 희석시킨 후, 그 희석액 0.5 ml을 취해 0.1 ml H₃PO₄(85%), 0.8 ml dipyridyl(1%), 0.1 ml ferric chloride (3%)를 차례로 첨가하였다. 시약을 완전히 섞고 상온에서 15분간 방치한 후 525 nm에서 흡광도를 측정하여 부신 중의 ascorbic acid 함량을 측정하였다(Zannoni 등, 1974).

혈액내 cholesterol 함량 변화 - 혈청 0.5 ml를 취하여 초산에틸-에탄올(1:1) 혼합용액 5 ml과 잘 섞은 후 5분 동안 원심분리하였다. 상등액 0.5 ml를 취하여 FeCl₃(0.07%, acetic acid) 1.0 ml를 가한 다음 진한 황산 1.0 ml를 가한 후 상온에서 냉각시킨 다음 550 nm에서 흡광도를 측정하였다

(Flegg, 1973).

혈액 분석 - 복부 정중선을 따라 흰쥐를 개복한 후 복부 대동맥에서 혈액을 채취한 다음 상온에서 약 30분 동안 방치시킨 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 혈청은 Sigma kit(Sigma Chemical Co., USA.)를 이용하여 혈액생화학분석을 시행하였으며 혈액의 분석항목은 스트레스와 관련이 있다고 생각되는 lactate dehydrogenase(LDH), alkaline phosphatase(ALP), glucose를 선정하여 스트레스 지표로서 사용하였다(Bowers와 McComb, 1973).

(2) Oscillation 스트레스

스트레스의 부과 - Oscillation 부과를 위해 reciprocating shaker를 사용하여 스트레스를 가하였다. 10마리의 생쥐를 한 그룹으로 하여 oscillation 장치에 넣고 4시간 동안 129 cycle/min으로 oscillation시켰다. 실험군은 다음의 방법으로 나누어 시행하였다. 약물 투여를 oscillation stress 부과 10분 전에 경구투여하고, oscillation 직후와 30분 후에 직장체온, 회전봉시험, 진사운동과 자발운동능을 측정하는 군과 약물의 투여를 oscillation 직후에 경구투여하는 군으로 하여 투여 30분과 120분 후에 위의 지표를 각각 측정하였다(Takasugi 등, 1984).

직장체온(rectal temperature)과 회전봉시험(rotarod performance) - 직장체온은 직장체온계(pyrogen test processor type APT75, ELLAB)를 사용하여 측정하였고, 회전봉시험은 8 rpm의 조건에서 3분간 시행시 성공한 생쥐를 개수하여 %로 환산하여 측정하였다. 단 실험에 사용한 생쥐는 실험 전날 8 rpm의 조건에서 3분간 시행시 낙하하지 않는 횟수가 2회인 생쥐만을 선별하여 사용하였다.

진사운동(exploratory movement) 및 자발운동(spontaneous movement) - 진사운동은 automated two-way shuttle box를 사용하여 능동회피능을 측정하였다. Shuttle box는 바닥에 금속 그리드(grid)가 설치되어 있는 좌우대칭의 두 방으로 나누어진 장방형의 상자로 생쥐를 넣고 조건자극으로 2초간의 광자극(100 V, 60 W)을 주고, 3초간의 간격을 두고 무조건 자극으로서 그리드 판으로부터 40 V의 전기자극을 주는 것을 20초 간격으로 10회 실시하여 조건회피반응과 도피반응을 %로 환산하여 측정하였다(Miyamoto 등, 1985; Araki 등, 1986). 자발운동은 activity meter를 사용하여 자발운동능을 측정하였다.

나. 화학적 스트레스

스트레스의 부과 - 화학적 스트레스 부과를 위해 40% alcohol을 0.1 ml/10 g의 용량으로 경구투여하여 다음의 실험을 시행하였다. 약물의 투여는 알콜 투여 30분 전에 경구투여하였다.

능동회피능 측정(active avoidance test) - 능동회피능의 측정은 위에 언급한 진사운동 측정법과 동일한 방법으로 알콜 투여 전, 투여 후 30, 60, 90 및 120분에 조건회피반응과

도피반응을 %로 환산하여 측정하였다(Miyamoto 등, 1985; Araki 등, 1986).

회전봉시험 - 실험시행 전날 8 rpm 조건의 회전봉에서 3분간 낙하하지 않는 횟수가 2회인 생쥐만을 선별하여 실험에 사용하였으며, alcohol 투여 후 30, 60, 90, 120, 150 및 180분에 각각 시행하여 성공한 생쥐를 %로 환산하여 측정하였다.

혈중 알콜 농도 측정 - 알콜 투여 1시간 및 2시간 후에 혈액을 채취한 후 얻어진 혈청을 Sigma kit(Sigma Chemical Co., USA.)를 이용하여 혈중 알콜 농도를 정량하였다.

다. 정신적 스트레스

스트레스의 부과 - 능동회피능을 측정하는 방법을 이용하여 자극을 20번 실행하는 것을 1일 1회 10일간 실시하여 회피반응과 도피반응 횟수를 개수하여 %로 환산하여 측정하였다(Miyamoto 등, 1985; Araki 등, 1986; Sansone 등, 1994). 약물의 투여는 스트레스 부과 1시간 후에 경구투여하였다.

라. 환경적 스트레스

스트레스의 부과

Cold stress - 4°C의 저온실에서 연속되는 4일동안 첫번째 날은 4시간, 두번째날은 7시간, 세번째 그리고 네번째날은 각각 24시간동안 방치하였다. 약물의 투여는 매일 일정 시간에 경구투여하였으며, 마지막 경구투여 24시간 후에 생쥐를 희생하여 측정항목을 측정하였다(Kimura 등, 1996). 측정항목으로는 면역과 관련된 장기인 흉선과 비장을 적출해 내어 장기지수를 측정하였으며, 백혈구의 수를 자동혈액분석기를 이용하여 개수하였다.

Heat stress - 37°C가 유지되는 항온조에 45분간 노출시키고 4일 동안 일정한 시간에 약물을 경구투여하였으며, 마

지막 경구투여 24시간 후에 생쥐를 희생하여 cold stress시와 동일한 측정항목을 측정하였다(Kimura 등, 1996).

마. 통계학적 분석

모든 실험결과는 평균±표준오차로 나타내었으며, 자료 분석은 Student's unpaired t-test를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다. 특히 회전봉 시험은 χ^2 -test를 사용하였고, 회피능 측정은 Mann-Whitney's U-test를 사용하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

실험결과

가. 신체적 스트레스

(1) 수침구속스트레스

장기무게의 변화 - 스트레스 24시간 부과시 부신은 14.7 ± 0.6 mg/100 g b.wt.에서 18.8 ± 0.4 mg/100g b.wt.로 현저하게 비대되었고 UDCA 투여시 스트레스군에 비해 유의적으로 억제하였으나, 대조군의 수치까지 회복되지는 않았다. 비장의 무게도 스트레스 부과에 의해 292 ± 16 mg/100g b.wt.에서 135 ± 4 mg/100 g b.wt.로 현저한 감소를 보였으며 이러한 감소는 약물의 투여에 의해서 회복되지 않았다(Fig. 1).

부신내 ascorbic acid 함량과 혈중 cholesterol 및 glucose의 변화 - 부신내 ascorbic acid 함량은 24시간 스트레스 유도에 의해 444 ± 14 mg/100 g ad.wt.에서 419 ± 11 mg/100 g ad.wt.로 감소하는 경향을 나타내었고, 이는 UDCA 투여시 다소 회복되었으며, TUDCA 투여시 유의적으로 증가하였다. 혈중 cholesterol은 스트레스 유도시 현저한 감소를 나타내었고, TUDCA 투여시 스트레스군에 비해 유의적으로 증가하였다. 혈중 glucose는 스트레스 부과시 유의적으로 증가하였고, UDCA 및 TUDCA 투여시 스트레스군에 비해

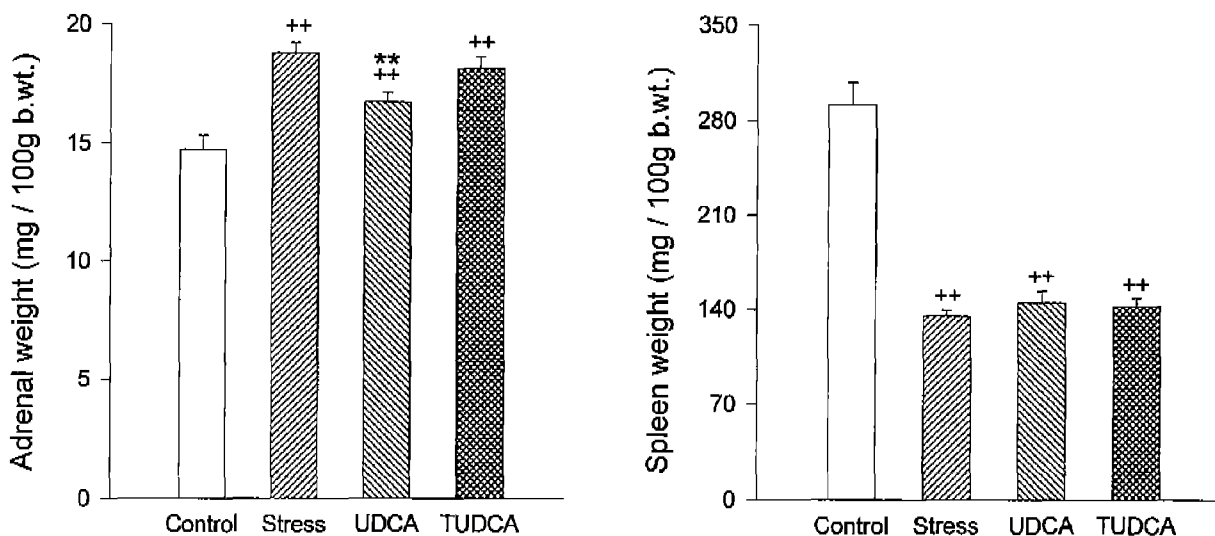


Fig. 1. Effects of cholic acid derivatives on adrenal and spleen weight in restraint stress model. **=Significantly different ($p < 0.01$) from stress group. ++=Significantly different ($p < 0.01$) from control group. Values are means \pm S.E.M. for 16 to 20 rats per group.

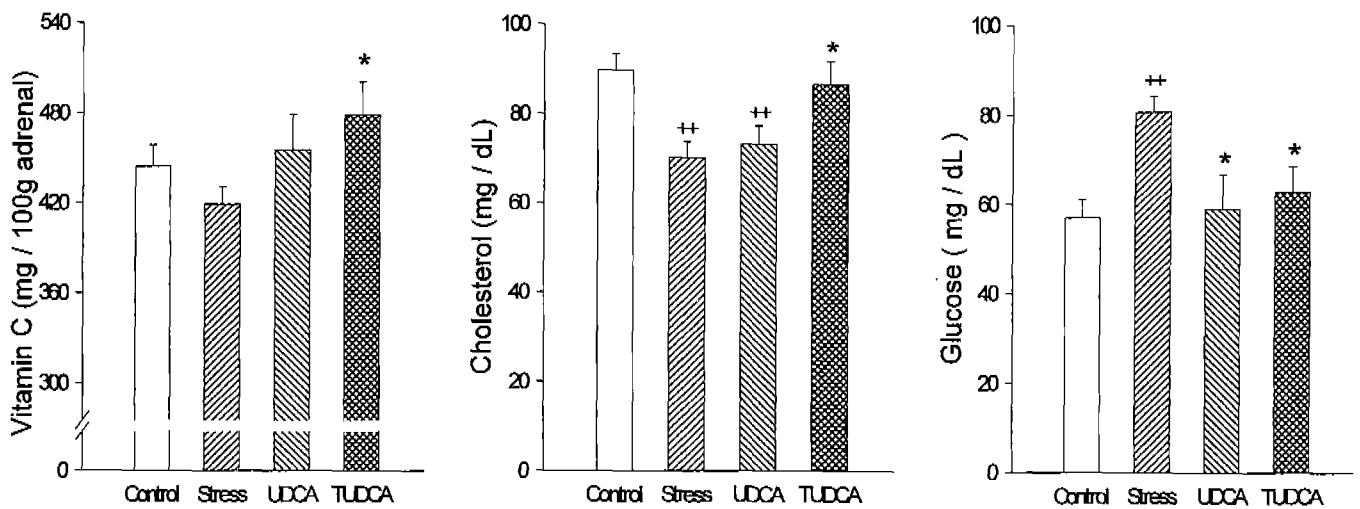


Fig. 2. Effects of cholic acid derivatives on adrenal ascorbic acid, serum cholesterol and serum glucose in restraint stress model. *=Significantly different ($p < 0.05$) from stress group. **=Significantly different ($p < 0.01$) from control group. Values are means \pm S.E.M. for 16 to 20 rats per group.

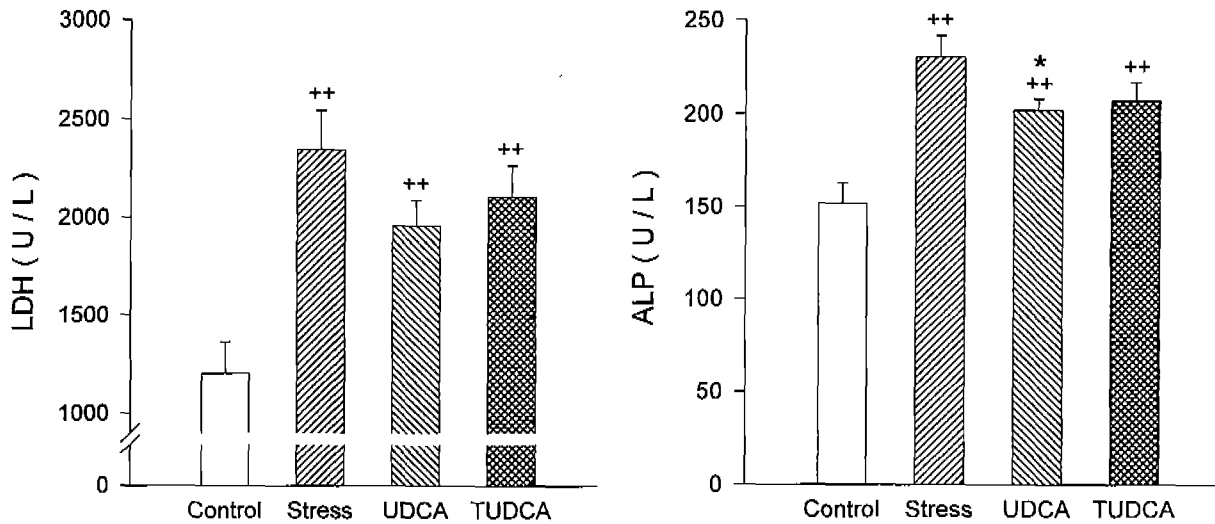


Fig. 3. Effects of cholic acid derivatives on lactate dehydrogenase (LDH) and alkaline phosphatase (ALP) activities in restraint stress model. *=Significantly different ($p < 0.05$) from stress group. **=Significantly different ($p < 0.01$) from control group. Values are means \pm S.E.M. for 16 to 20 rats per group.

유의적으로 감소되었다(Fig. 2).

혈액 분석 - 스트레스 부과시 혈중 LDH와 ALP가 유의적으로 증가하였으며, UDCA와 TUDCA 투여시 LDH가 스트레스군에 비하여 감소하는 경향을 나타내었다. ALP는 UDCA 투여시 스트레스군에 비하여 유의적으로 감소하였다(Fig. 3).

(2) Oscillation stress

직장 체온 - 스트레스 부과 전 약물투여군에서는 스트레스 부과 직후 대조군의 값인 $37.45 \pm 0.14^\circ\text{C}$ 에 비하여 스트레스군과 약물투여군 모두에서 직장체온의 유의적인 감소가 있었으며, 30분 후 재측정시 대조군의 값에 비해 유의적

인 증가가 있었다. 스트레스 부과 후 약물투여군에 있어서는 스트레스군과 약물투여군 모두에서 투여 30분 및 120분 후 측정시 대조군의 값과 큰 차이를 보이지 않았다. 다만 TUDCA 투여군에서 투여 30분 후에 대조군의 값에 비하여 유의성 있는 증가를 나타내었다(Fig. 4).

회전봉 시험 - 스트레스 부과 전 약물투여군에서는 스트레스 부과 30분 후에 UDCA 또는 TUDCA 투여군에서 스트레스군에 비하여 낮아지지 않는 생쥐의 비율이 증가하는 경향을 나타내었으며, 부과 후 약물투여군에서도 투여 120분 후에 스트레스군에 비하여 다소 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 5).

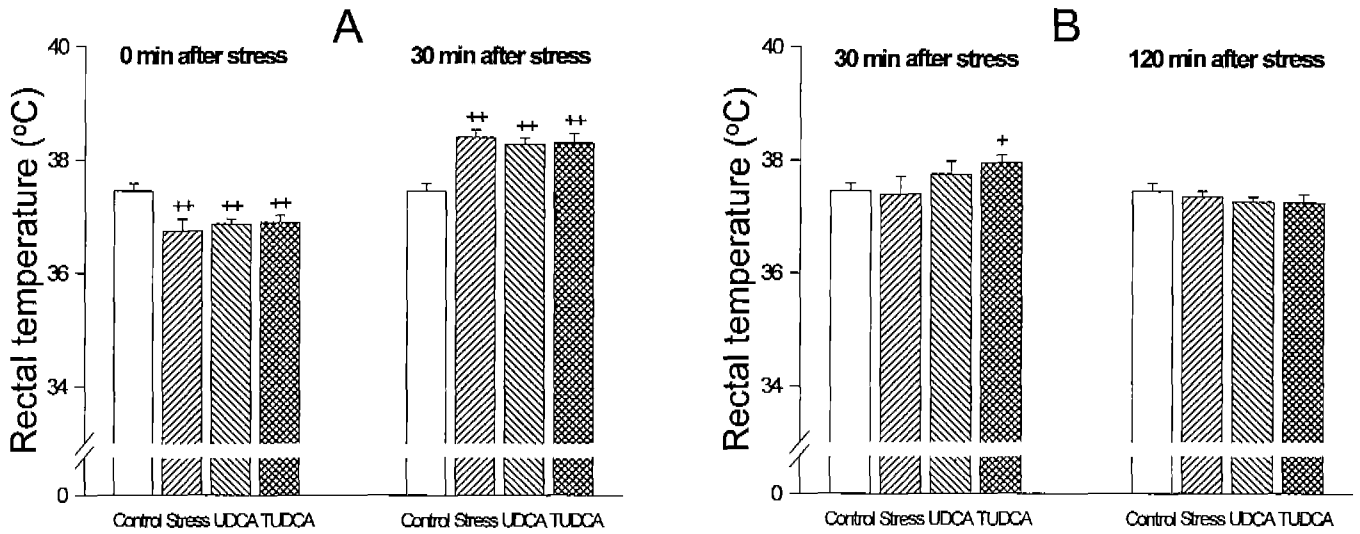


Fig. 4. Effects of cholic acid derivatives on rectal temperature in oscillation stress model. ⁺⁺=Significantly different ($p < 0.05$, $p < 0.01$) from control group. Values are means \pm S.E.M. for 16 to 20 mice per group. A; Drugs were given 10 min before the exercise, B; Drugs were given at the end of exercise.

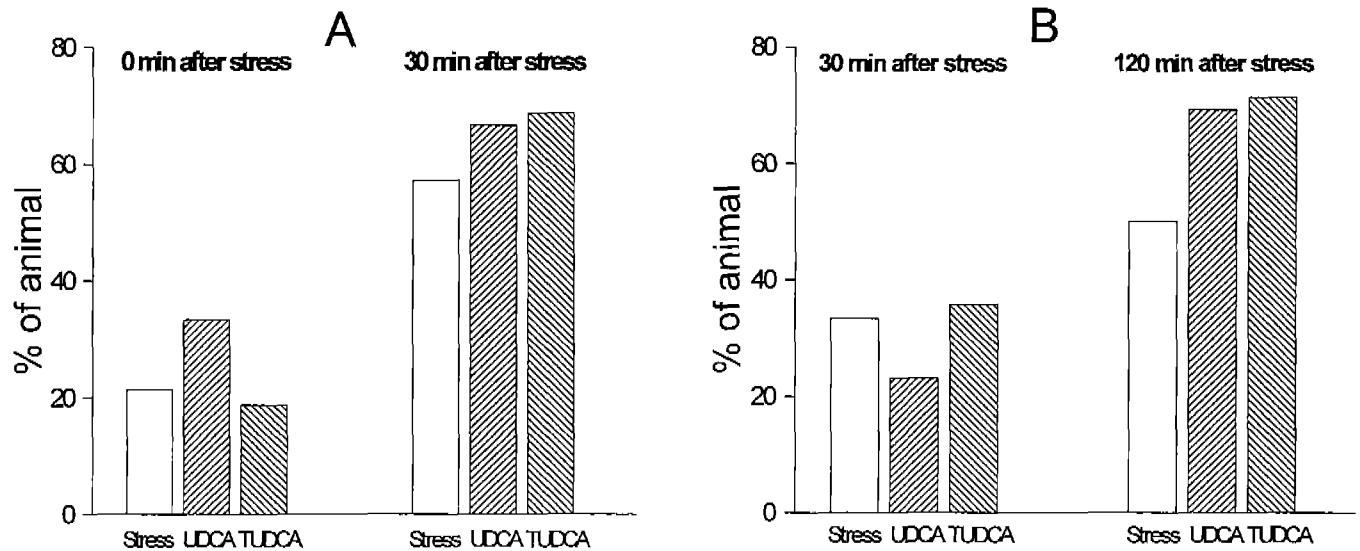


Fig. 5. Effects of cholic acid derivatives on rotarod performance in oscillation stress model. Values are means \pm S.E.M. for 16 to 20 mice per group. A; Drugs were given 10 min before the exercise, B; Drugs were given at the end of exercise.

진사운동-진사운동은 스트레스군에서 스트레스 부과 30분 후에 대조군의 값에 비하여 감소하는 경향을 나타내었고, 스트레스 부과 전 UDCA 또는 TUDCA 투여군에서 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 부과 후 약물투여군에서도 투여 120분 후에 UDCA 또는 TUDCA 투여군에서 대조군의 값에 비하여 유의성 있게 감소하였으며, 이는 스트레스군 보다는도 작은 값을 나타내었다(Fig. 6).

자발운동-스트레스 부과 전 약물투여군에서 자발운동은 스트레스 부과 30분 후에 UDCA 또는 TUDCA 투여군에서 스트레스군에 비하여 감소하는 경향을 나타내었다.

스트레스 부과 후 약물투여군에서는 투여 30분 후에 대조군에 비하여 유의성 있는 증가를 나타내었다(Fig. 7).

나. 화학적 스트레스

능동 회피능-UDCA 투여군에 있어서는 모든 측정시간대에서 스트레스군에 비하여 회피능이 증가하였으나 통계적 유의성은 나타나지 않았다(Fig. 8).

회전봉 시험-UDCA 투여군은 투여 60분 및 90분 후에 스트레스군에 비하여 낙하하지 않는 생쥐의 비율이 증가하는 경향을 나타내었으며, 120분 및 150분 후에는 통계적 유의성은 없었으나 오히려 비율이 감소하였다. TUDCA 투여

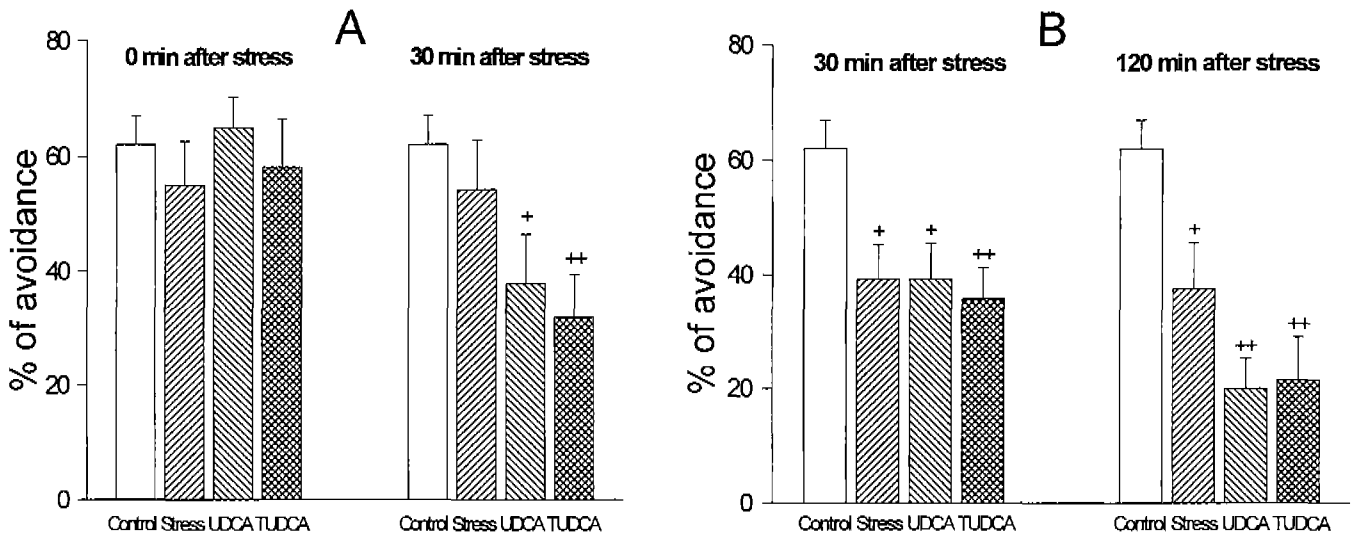


Fig. 6. Effects of cholic acid derivatives on exploratory movement in oscillation stress model. ^{***}=Significantly different ($p < 0.05$, $p < 0.01$) from control group. Values are means \pm S.E.M. for 16 to 20 mice per group. A; Drugs were given 10 min before the exercise, B; Drugs were given at the end of exercise.

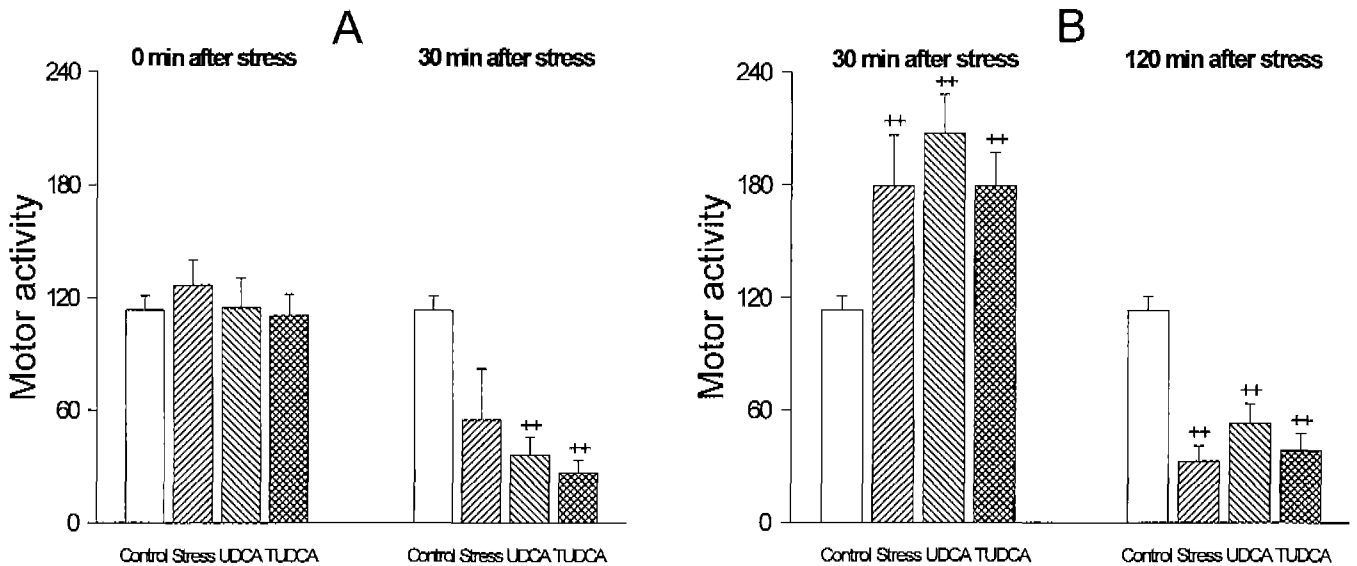


Fig. 7. Effects of cholic acid derivatives on spontaneous movement in oscillation stress model. ^{**}=Significantly different ($p < 0.01$) from control group. Values are means \pm S.E.M. for 16 to 20 mice per group. A; Drugs were given 10 min before the exercise, B; Drugs were given at the end of exercise.

군은 투여 90분 후에 스트레스군에 비하여 유의성 있는 증가를 나타내었다(Fig. 9).

혈중 알콜 농도 - UDCA 또는 TUDCA 투여군에서 알콜 투여 1시간 및 2시간 후에 스트레스군과 비교하여 낮은 농도를 보였으나 통계적 의의는 없었다(Fig. 10).

다. 정신적 스트레스

회피능 - UDCA 또는 TUDCA 투여군에 있어서 회피능이 TUDCA의 경우, 5일째부터 스트레스군에 비하여 증가하여 10일째까지 지속적으로 증가하였으며, UDCA의 경우

에도 6일째부터 스트레스군에 비하여 증가하여 10일째까지 지속적으로 증가하였다. 그러나 두군에 있어서 회피능의 증가는 통계적인 유의성을 나타내지 않았다(Fig. 11).

라. 환경적 스트레스

Cold and heat stress

장기지수의 변화 - Cold stress 부과시 흉선과 비장의 무게가 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였고, UDCA 또는 TUDCA 투여시 스트레스군에 비하여 유의적으로 무게를 증가시켰다. Heat stress 부과시 흉선과 비장의 무게가

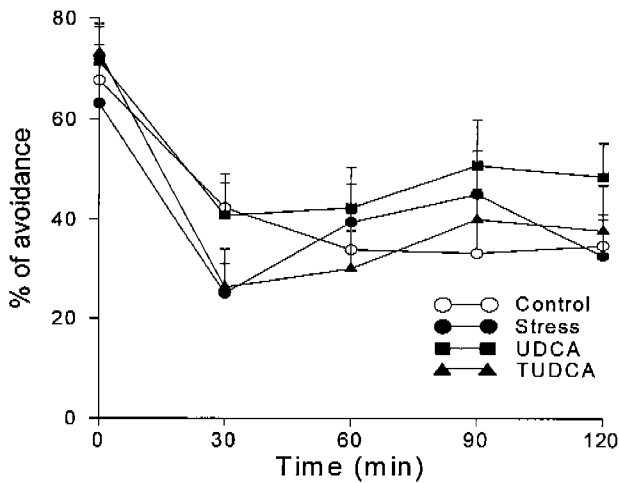


Fig. 8. Effects of cholic acid derivatives on total avoidance in alcohol-induced stress model. Values are means \pm S.E.M. for 13 to 15 mice per group.

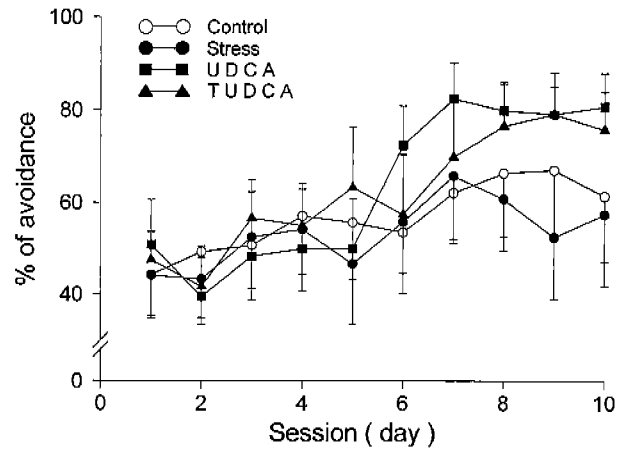


Fig. 11. Effects of cholic acid derivatives on avoidance performance. Values are means \pm S.E.M. for 6 to 7 mice per group.

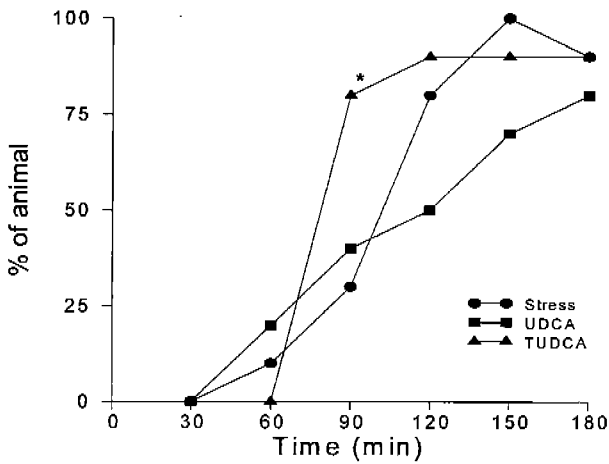


Fig. 9. Effects of cholic acid derivatives on alcohol-induced motor incoordination. * = Significantly different ($p < 0.05$) from stress group. Values are means \pm S.E.M. for 10 mice per group.

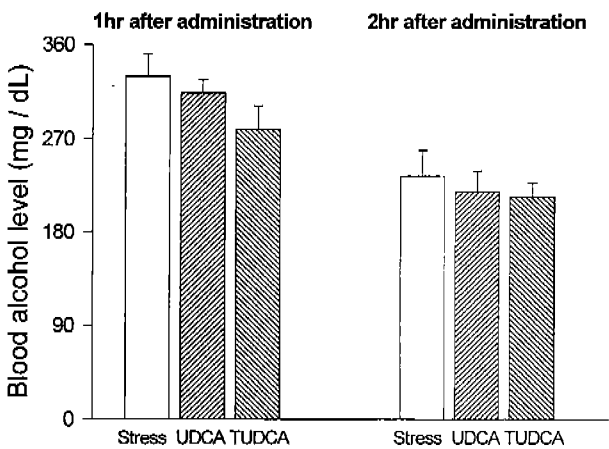


Fig. 10. Effects of cholic acid derivatives on blood alcohol level in alcohol-induced stress model. Values are means \pm S.E.M. for 7 to 8 mice per group.

대조군에 비하여 감소하였으나 통계적 의의는 없었고, TUDCA 투여시에 흥선의 무게가 스트레스군에 비하여 유의적으로 증가하였다(Fig. 12).

백혈구수의 변화 - Cold stress 부과시 백혈수가 대조군에 비하여 유의적으로 증가하였고, UDCA 및 TUDCA 투여시 스트레스군에 비하여 유의적으로 백혈구수를 감소시켰다. Heat stress 부과시 백혈수가 대조군에 비하여 유의적으로 증가하였고, TUDCA 투여시에 백혈구수가 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다(Fig. 13).

고찰

스트레스는 생체의 교감신경계인 뇌하수체-부신계의 기능 향진에 의해 모든 반응이 매개되어 정동반응을 일으키는 것과 동시에 운동기능 및 자율기능에도 영향을 미친다고 알려져 있다(Brekman 등, 1969). 스트레스에 의해 일어나는 생체의 여러 반응들은 시상하부-뇌하수체-부신계(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA axis)를 통하여 일어나며(Selye, 1950; Chower 등, 1967; Hodges 등, 1976; Laurel 등, 1989), 이는 중추신경계의 외부자극에 대한 감지를 통하여 시작된다. 중추신경계 중 변연계는 외부의 자극에 대한 생체의 적응현상을 나타내는데 있어 중요한 역할을 하는 기관으로 알려져 있으며, 대뇌 피질과 시상하부를 연결하는 장소이기도 하며 외부자극에 대한 감지는 시상하부의 CRF(corticotropin-releasing factor)의 분비를 자극하고, 이는 뇌하수체의 ACTH의 분비를 자극하여 시상하부-뇌하수체-부신계의 일련반응들이 시작하게 되어 여러 생체 변화를 나타내게 된다.

담즙산은 인간과 동물의 담즙에 함유되어 있으며 이담작용, 간혈류 증가작용, 지방의 흡수 촉진작용 및 미세 담도

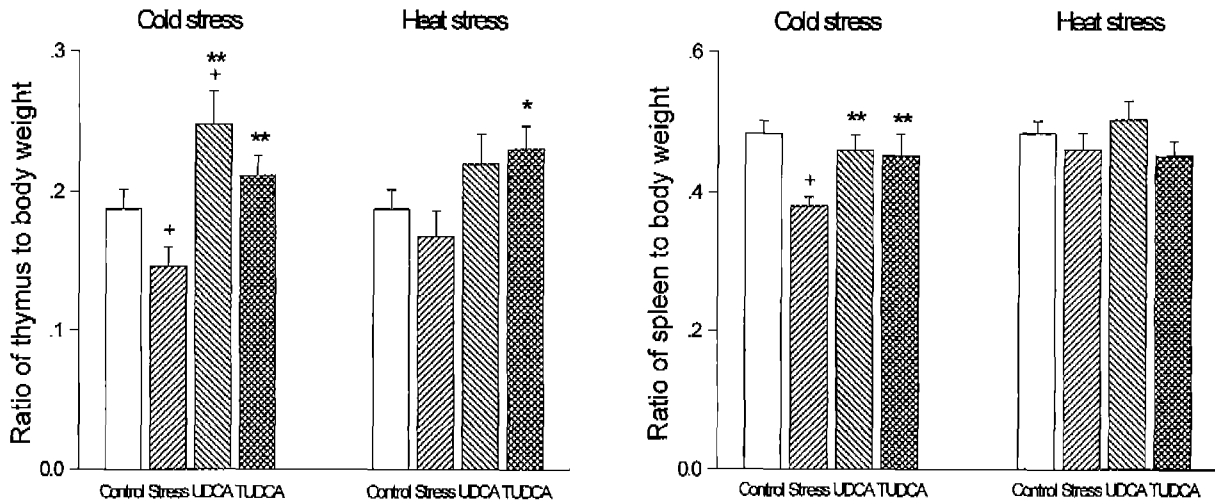


Fig. 12. Effects of cholic acid derivatives on the involutions of thymus and spleen in cold and heat stress model. *,**=Significantly different ($p < 0.05$, $p < 0.01$) from stress group. +=Significantly different ($p < 0.05$) from control group. Values are means \pm S.E.M. for 10 to 16 mice per group.

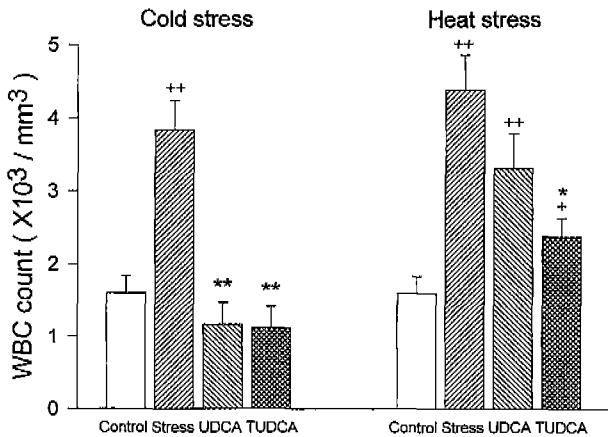


Fig. 13. Effects of cholic acid derivatives on white blood cells in cold and heat stress model. *,**=Significantly different ($p < 0.05$, $p < 0.01$) from stress group. **+=Significantly different ($p < 0.05$, $p < 0.01$) from control group. Values are means \pm S.E.M. for 10 mice per group.

를 통한 노폐물 배설작용을 가지고 있다. 담즙의 주요성분인 담즙산은 간에서 생성되며 대부분 장에서 다시 흡수되어 담관계로 배설된다. 이들 담즙산 중에서 chenodeoxycholic acid(CDCA)는 1972년 이래 cholesterol 담석증 환자에 사용되었으나(Iser 등, 1975) 이를 6개월동안 내복한 경우 심한 간독성이 유발된다고 하므로 그 이후 ursodeoxycholic acid(UDCA)가 대표적 담석용해제로 사용되기 시작하였다(Makina 등, 1975). 이미 잘 알려진 바와 같이 담즙산의 주된 기능은 지방용해작용이나 병아리의 생체내 실험에서 장관의 calcium 흡수에 담즙산염이 필요하고 이 기전은 담즙산염이 장관에서 calcium 용해도를 증가시키는 것으로 추측했다. 더우기 최근 연구에 따르면 UDCA가 간장 허혈 및

재관류 손상시에 나타나는 세포내로의 과도한 Ca⁺⁺의 유입을 조절하여 생체내 수준을 유지시켜 주고, 이는 세포내의 주요 기관인 미토콘드리아와 소포체에 미치는 손상을 줄여 주어 담즙을 통한 Ca⁺⁺의 방출을 증가시키며 순환 혈중 Ca⁺⁺ 농도를 증가시켜 세포 내 Ca⁺⁺의 과도축적을 막아 간 회복의 지표인 담즙량을 증가시키는 세포보호작용이 있다고 하며(Ono 등, 1995), UDCA가 수침구속스트레스에 의해 유발된 케양과 위점막의 지질과산화를 억제시키며 이는 담즙산류의 이담작용에 기인된다고 한다(Cho 등, 1995; Park 등, 1996).

신체적인 스트레스를 유발하기 위해 사용한 구속스트레스에 의한 부신비대는 호르몬의 영향을 받아 스트레스 부과 초기에 부신비대 현상이 종료된다고 알려져 있으므로(Cho 등, 1995), 담즙산류에 의한 부신무게의 감소는 스트레스 부과 초기에 호르몬의 증가와 관계가 있는 것으로 사료된다. 또한 면역계와 관련된 비장의 무게 감소를 회복시키지 못한 것은 면역계 장기의 위축 뿐만 아니라 혈액의 저장 장소인 비장이 절수상태에서 24시간 방치시 체액이 고갈됨에 기인되는 것으로 보인다. 부신에서의 corticosteroid 합성과정에 관여하는 것으로 알려진 부신내 ascorbic acid의 감소는 스트레스 초기에 빠르게 감소하며 시간이 지날수록 corticosteroid 분비가 감소함에 따라 다시 증가된다고 보고되어 있는데(Cho 등, 1995), 본 실험에서도 구속스트레스 유도시 ascorbic acid가 감소하는 경향을 나타내었으며, 담즙산류에 의해 이러한 감소를 회복시켰다. 스트레스에 의한 혈중 corticosteroid의 증가는 또한 지질 및 탄수화물 대사에 영향을 주어 혈중 cholesterol 및 glucose 수치를 증가시키는데(Selye, 1983), 본 실험에서는 혈중 cholesterol이 스트레스군에서 오히려 낮은 결과를 나타내었고, 담즙산류

에 의해 오히려 증가하는 경향을 나타내었으나 glucose의 양은 담즙산류에 의해 유의적으로 감소하였다. 담즙산류의 투여군에서 혈중 cholesterol의 증가는 담즙산류의 지방용해작용과 일부 관련이 있는 것으로 사료된다. 또한 Cho 등 (1995)에 따르면 다른 효소에 비해 corticosteroid에 영향을 비교적 많이 받는다고 알려진 LDH와 ALP의 상승을 관찰할 수 있었고, 담즙산류에 의해 이러한 효소의 감소를 보였다. 이상의 결과로 미루어 보아 스트레스의 지표라 할 수 있는 corticosteroid 합성장기인 부신, 합성관련물질인 부신내 ascorbic acid, 혈중의 glucose 및 corticosteroid에 영향을 받는 효소인 LDH, ALP의 회복은 이들 담즙산류가 구속스트레스에 의해 유발되는 여러 생체 변화에 대해 항스트레스 작용이 있는 것으로 사료된다.

Oscillation stress시 체온 저하가 stress 직후 관찰되었으며, 30분 후에는 오히려 체온 상승이 관찰되었다. Oscillation stress에 의한 체온 저하는 Saito 등(1974)에 의해서도 보고되어 있으나, 그 정확한 기전은 아직 불분명하다. 한편 stress에 의한 체온 상승은 sympathoadrenal medullary system(SAM)의 활성화에 기인된 HPA axis의 활성화와 관련된다라고 보고되어 있다(Henry 등, 1992). 스트레스에 의한 회전봉 시행능력 저하는 담즙산류를 투여함으로써 회전봉 시행능력을 약간 상승시켰고 이는 담즙산류가 말초운동을 활성화시키는 효과가 있는 것으로 여겨진다. 진사운동과 자발운동에서 담즙산류 투여 후 회피능과 자발운동능이 오히려 스트레스군 보다도 감소하였는데 이는 담즙산류가 스트레스의 영향을 증가시키는 것으로 생각된다.

알콜은 시상하부-뇌하수체-부신계를 활성화시켜 혈중 corticosteroid를 증가시키는 화학적 스트레스 유발인자로 작용한다. 간장 내에서는 알콜을 분해하기 위한 cytochrome P450의 작용으로 산화적 스트레스가 유도되어 체내 활성산소의 형성으로 지질 과산화, DNA 손상, 조직 손상 등의 간세포 손상이 유도된다. 또한 알콜의 만성 투여시 뇌조직 중 해마에서는 증가된 corticosteroid로 glutamate를 증가시키고, 이는 또한 Ca^{++} 유입을 증가하여 해마의 손상을 가중시킨다. Corticosteroid는 또한 해마의 에너지원인 glucose의 유도를 저하시킨다(Robert 등, 1994; Sapolsky 등, 1993). 본 연구에서 알콜 투여 후 해마 손상의 지표로 회피능을 관찰한 결과 담즙산류를 투여한 군에서 이러한 회피능의 증가가 관찰되었으나, 작용을 입증하기 위해서는 해마손상 여부를 확인할 수 있는 병리조직검사가 필요할 것으로 사료된다.

정신적인 스트레스를 유발하기 위해 사용한 능동회피능 측정법은 일정한 빛의 자극 후에 전기자극을 가함으로써 쥐에게 공포감을 극대화시키는 일종의 정신적인 스트레스 유발 모델이다. 이러한 공포감에 의해 쥐는 배뇨와 배변 등의 생체변화를 보이며, 계속되는 전기자극으로 회피하게 되는

학습능력을 획득하게 된다. 극도의 공포감에 의해 회피반응인 회피능의 상승은 관찰되지 않으며 공포감이 저하되면서 빠른 학습능력을 갖게되어 회피능이 상승하게 된다(Selye, 1983). 담즙산류의 투여는 회피능을 상승시키는 효과를 나타내었고, 이에 미루어 볼때 담즙산류는 정신적인 스트레스에도 항스트레스 효과를 나타내는 것으로 보인다.

환경적인 스트레스를 유발하기 위해 cold stress와 heat stress를 사용하여 이들과 면역계와의 상관성을 알아보았다. Cold stress는 면역장기인 흉선과 비장의 위축을 유도하고 또한 백혈구수의 증가를 유발하였다. 이는 cold stress가 면역계에 억제적으로 작용한다는 것을 의미하며, 담즙산류의 투여는 cold stress에 의한 흉선과 비장의 위축을 억제하였고 또한 백혈구수의 감소를 유도하였다. 이는 담즙산류의 면역조절작용에 일부 관련되는 것으로 생각된다. Heat stress에 의해서도 면역장기의 위축은 관찰되지 않았으나 백혈구수의 증가가 관찰되었다.

본 연구에서 다양한 스트레스 모델을 이용하여 담즙산류의 항스트레스 작용을 검색한 결과 담즙산류는 수침구속스트레스와 cold 스트레스에 항스트레스 효과를 나타내었으며 이외의 스트레스 모델에서도 유의성은 보이지 않았으나 긍정적인 항스트레스 작용을 나타내었다고 사료된다.

최근 담즙산류가 세포손상과 직접적인 관련이 있는 Ca^{++} level에 조절작용을 나타내고 면역조절작용에도 관여한다고 보고되어 있으므로, 앞으로는 스트레스와 연관지어 세포내 Ca^{++} level의 조절, 스트레스 단백질과의 상관성 및 면역세포와의 상관관계 등이 연구되어야 할 것으로 생각된다.

감사의 말씀

이 논문은 1996년도에 성균관대학교 석천연구비에 의하여 연구되었기에 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Araki, H., Uchiyama, Y., Kawashima, K. and Aihara, H. (1986). Impairment of memory and changes in neurotransmitters induced by basal forebrain lesion in rats. *Jap. J. Pharmacol.* **41**, 497-504.
- Bowers, G. N. and McComb, R. B. (1973). A continuous spectrophotometric method for measuring the activity of serum alkaline phosphatase. *Clin. Chem.* **12**, 46.
- Brekhman, I. I. and Dardymov, I. V. (1969). Pharmacological investigation of glycosides from ginseng and eleutherococcus. *Lloydia* **32**, 46-59.
- Cho, T. S., Lee, S. M., Yeom, J. H., Yu, E. J., Lim, S. W., Jang, B. S., Kim, Y. H., Yu, Y. M. and Park, M. H. (1995). Anti-stress effects of ursodeoxycholic acid on the restraint stress in rats. *Yakhak Hoeji* **39**, 548-553.
- Chowers, I., Conforti, N. and Feldman, S. (1967). Effect of

- corticosteroids on hypothalamic corticotropin releasing factor (CRF) and pituitary ACTH content. *Neuroendocrinol.* **2**, 193-199.
- Christina, J., Hans, W. and Hans, M. (1989). Haematological changes during acute mental stress. *Br. J. Haemat.* **71**, 153-156.
- Conner, R. L., Vernikos-Danellis, J. and Levine, S. (1971). Stress, fighting and neuroendocrine function. *Nature* **2**, 564-566.
- Dallman, M. F., Engeland, W. C. and McBride, M. H. (1977). The neural regulation of compensatory adrenal growth. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **297**, 373-392.
- David, N. K., Anthony, J. M. and Robert, E. F. (1990). Effects of stress on the immune system. *Immunology today* **11**, 170-176.
- Flegg, H. M. (1973). An investigation of the determination of serum cholesterol by an enzymatic method. *Ann. Clin. Biochem.* **10**, 79.
- Glavin, G. B. (1985). Stress and brain noradrenaline: A review. *Neuro. Biobeh. Rev.* **9**, 233-241.
- Henry, J. P. (1992) Biological basis of the stress response. *Integr. Physiol. Behav. Sci.* **27**, 66.
- Hodges, J. R. (1976). The hypothalamic-pituitary-adrenal cortical system. *J. Pharm. Pharmacol.* **28**, 379-382.
- Iser, J. H., Dowling, R. H., Mok, H. Y. I. and Bell, G. D. (1975). Chenodeoxycholic acid treatment of gallstones: a follow up report and an analysis of factors influencing response to therapy. *N. Eng. J. Med.* **293**, 378-383.
- Kawamura, T., Koiaumi, F. and Ishimori, A. (1989). Effect of ursodeoxycholic acid on water immersion restraint stress ulcer of rats. *J. Endocrinol.* **55**, 489.
- Kim, N. D., Hahn, B. H. and Lee, E. B. (1979). Studies of ginseng on the anti-stress effects. *Kor. J. Pharmacog.* **10**(2), 61-67.
- Kimura, M., Suzuki, M. and Araki, S. (1996). Effect of immunostimulators on involution of lymphoid organs in mice exposed to heat and cold stress. *J. Vet. Med. Sci.* **58**(3), 255-257.
- Laurel, A. F. (1989). Corticotropin-releasing factor: endocrine and autonomic integration of responses to stress. *TIPS* **10**, 189-193.
- Makino, J., Shinazaki, K. and Yoshino, K. (1975). Dissolution of cholesterol gallstones by ursodeoxycholic acid. *Jap. J. Gastroenterol.* **72**, 690-691.
- Miyamoto, M., Shintani, M., Nagaoka, A. and Nagawa, Y. (1985). Lesioning of the rat basal forebrain leads to memory impairment in passive and active avoidance tests. *Brain Res.* **328**, 97-104.
- Ono, T., Nagasue, N., Kohno, H., Uchida, M., Takemoto, Y., Dhar, D. K. and Nakamura, T. (1995). Effect of tauroursodeoxycholic acid on bile flow and calcium excretion in ischemia-reperfusion injury of rat liver. *J. Hepatology* **23**, 582-590.
- Park, I., Kim, Y. I., Lee, S. M. and Cho, T. S. (1996). Anti-stress effect of cholic acid derivatives in restraint stress induced rats. *J. Appl. Pharmacol.* **4**(2), 162-166.
- Saito, H., Yoshida, Y. and Takagi, K. (1974). Effect of panax ginseng root on exhaustive exercise in mice. *Jap. J. Pharmacol.* **24**, 119-127.
- Sansone, M., Battaglia, M. and Castellano, C. (1994). Effect of caffeine and nicotine on avoidance learning in mice: lack of interaction. *J. Pharm. Pharmacol.* **46**, 765-767.
- Sapolsky, R. M. (1993). Potential behavioral modification of glucocorticoid damage to the hippocampus. *Behav. Brain Res.* **57**, 175-182.
- Selye, H. (1936). A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* **138**; 32.
- Selye, H. (1976). Stress in health and disease. *Butterworths, Boston, MA.*
- Selye, H. (1950). The physiology and pathology of stress. *Acta Inc., Montreal.*
- Selye, H. (1983). Selye's guide to stress research. *Van Nostrand Reinhold Co., N.Y.*
- Selye, H. (1958). The stress of life. *Longmans Green and Co., Toronto.*
- Sen, P., Maiti, P. C., Puri, S. and Ray, A. (1992). Mechanism of anti-stress activity of *Acimum sanctum* Linn, eugenol and *Tinospora malabarica* in experimental animals. *Ind. J. Exper. Biol.* **30**, 592-596.
- Takasugi, N., Kotoo, K., Fuwa, T. and Saito, H. (1984). Effect of garlic on mice exposed to various stress. *Oyo Yakuri-Pharmacometrics* **28**(6), 991-1002.
- Ward, A., Brogden, R. N., Heel, R. C., Speight, T. M. and Avery, G. S. (1984). Ursodeoxycholic acid: A view of its pharmacological properties and therapeutic efficacy. *Drugs.* **27**, 95-131.
- Zannoni, V., Lynch, M., Goldstein, S. and Sato, P. (1974). A rapid micromethod for the determination of ascorbic acid in plasma and tissues. *Biochemical medicine* **11**, 41-48.