

## 장기 고온스트레스가 마우스 혈청 Dehydroepiandrosterone Sulphate(DHEAS)농도에 미치는 영향

최 형 송<sup>†</sup>

우석대학교 이공대학 동물자원학과

## Effects of Long-term Thermal Stress on the Mouse Serum Concentrations of Dehydroepiandrosterone Sulphate(DHEAS)

Choi, H. S.<sup>†</sup>

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

### ABSTRACT

This study was carried out to investigate the possibility of dehydroepiandrosterone sulphate(DHEAS) as a stress hormone. Experiment 1) We evaluated the variation of DHEAS levels of long-term(30 minutes a day for 3 weeks) 37°C thermal stressed mice compared with that of cortisol. Serum concentrations of cortisol and DHEAS were measured by radioimmunoassay(RIA). Cortisol levels were not significantly altered both LW(Long-term stressed group, mice were killed without rest) and LR(Long-term stressed group, mice were killed after 4 days' rest) compared with control group, but DHEAS levels were decreased in LW compared with control group( $p<0.05$ ), and it kept a sustained difference after 4 days' rest(LR)( $p<0.05$ ). Experiment 2) We evaluated the changes of DHEAS levels on term of stress and rest. As stress term was longer, serum DHEAS levels were decreased and also kept a sustained difference after 10 days' rest compared with control group( $p<0.05$ ). These results suggest that cortisol has difficulty in taking an accurate measurement after extinction of stimuli, whereas DHEAS is more accurate and stable. Thus, this study implies that DHEAS is a stress-related hormone.

(Key words : Mouse, Long-term thermal stress, Stress hormone, DHEAS)

### I. 서 론

동물은 육체적, 생리적, 정신적 자극에 대하여 여러 호르몬을 분비함으로써 내부변화를 최소화하여 일정한 안정상태를 유지하며 살아간다. 그러나 과도한 스트레스로 인해 항상성(homeostasis)이 무너질 경우 이는 곧 여러 가지 질병을 유발시키는

요인으로 작용하게 되며, 계속되는 부적응의 결과로 면역력의 약화를 초래하게 된다.

외부자극(stressor)에 의해 시상하부-뇌하수체-부신(HPA)계의 활성이 일어나 부신에서 분비하게 되는 cortisol은 신체가 위협상황에 대비할 수 있는 방어태세를 갖게 해 주며, 위협상황이 끝날 경우 정상 수준으로 환원되어진다. 그러나 과도한 스트레스로 인해 cortisol의 분비가 지속적으로 증가되

<sup>†</sup> Corresponding Author : Dept. of Animal Resources Science, College of Natural Sciences & Engineering, Woosuk University.

면 이로 인해 부신피질의 비대를 일으킬 수 있으며(Opstad, 1994), Interleukin-2(IL-2)와 Interferon(INF)의 생산을 감소시켜 면역 억제효과를 나타내게 된다(Goulding과 Guyre, 1993). 이에 반해 dehydroepiandrosterone sulphate(DHEAS)는 부신에서 분비되어지는 물질로서 cortisol 보다 많은 양이 분비되며(Bird 등, 1978), 뚜렷한 anti-cortisol작용으로 면역력을 증진시키는 역할을 수행한다(Guazzo 등, 1996). 또한 DHEAS는 스트레스 및 당뇨병(Loviselli 등, 1994; Yamauchi 등, 1996), 암(Berg 등, 1999; Gordon 등, 1993) 그리고 면역결핍증(Lee 등, 1999) 등의 질병과 밀접한 관련이 있으며, 이러한 질병에 대한 신체의 적응을 돕는 중요한 역할을 수행한다고 보고되었다(Obut, 1998). 또한 모체가 받은 스트레스에 의해 태아의 cortisol 분비가 활성화되고 DHEAS 분비가 억제되며, 출생 후에도 DHEAS의 생산이 감소되므로 임신 중 스트레스는 태아에 악영향을 미친다는 보고가 있었다(Parker, 1999). 이러한 스트레스 측정에 cortisol을 이용한 기존의 방식은 cortisol이 일일주기(diurnal rhythm)의 영향을 받아 이른 아침에 높고 저녁에 낮게 분비되어지며(Kahn 등, 1988), 스트레스 상황 종료 시 빠르게 회복되기 때문에 정확한 스트레스 측정이 어려웠다. 따라서 이에 대한 보완을 위해 본 연구에서는 긴 half-life를 가지고 있고 일일주기의 영향을 거의 받지 않는 DHEAS(Lobo 등, 1980)를 스트레스에 대한 보다 안정적인 반응물질로 보고 이에 대한 가능성을 확인하며, 장기 고온스트레스를 부과한 뒤 휴식 후의 호르몬 변화를 관찰함으로써 보다 정확한 스트레스 마커를 찾자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시동물

#### 1) 실험 1

BALB/c 생쥐 수컷 30마리(4주령, 18~20 g)를 사육환경에 적응시키기 위해 12시간 명암주기(08:00 a.m/ 08:00 p.m), 온도 24±1°C의 일정환경에서 2

주간 안정화시킨 후 실험에 임하였다. 이 기간 동안 그룹별로 나누어 사육하며 먹이와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다.

#### 2) 실험 2

BALB/c 생쥐 수컷 78마리(6주령, 22~24 g)를 사육환경에 적응시키기 위해 12시간 명암주기(08:00 a.m/ 08:00 p.m), 온도 23±1°C의 일정환경에서 2주간 안정화시킨 후 실험에 임하였다. 이 기간 동안 그룹별로 나누어 사육하며 먹이와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다.

## 2. 스트레스 부과

### 1) 실험 1

생쥐를 Incubator에 넣어 매일 30분씩 3주간 고온스트레스를 부과하였다. 중간 유리문은 닫아 주었으며 내부 온도는 37°C를 유지하였다. 37°C 고온스트레스를 매일 30분씩 3주간 부과 후 마지막 날 즉시 혈액을 채취한 그룹(LW, 10마리)과, 매일 30분씩 3주간 부과 후 4일간 휴식을 주고 혈액을 채취한 그룹(LR, 10마리)으로 나누어 이를 대조군(C, 10마리)과 비교하였다. 스트레스 부과는 14:00~15:00 사이에 행하였으며 이 시간 동안에는 실험군과 대조군 모두에게 먹이와 물을 주지 않았다.

### 2) 실험 2

생쥐를 3개 그룹으로 분류하여 37°C 고온스트레스를 매일 30분씩 1주간(1 wk), 2주간(2 wk), 3주간(3 wk) 부과하였다. Incubator의 중간 유리문은 닫아 주었으며 내부 온도는 37°C를 유지하였다. 각 그룹을 소분하여 스트레스 부과 후 마지막날 즉시 혈액을 채취한 그룹(no rest, 6마리), 스트레스 부과 후 3일간 휴식을 준 그룹(3 days' rest, 6마리), 스트레스 부과 후 7일간 휴식을 준 그룹(7 days' rest, 6마리) 그리고 스트레스 부과 후 10일간 휴식을 준 그룹(10 days' rest, 6마리)으로 나누어 이를 대조군(C, 6마리)과 비교하였다. 스트레스 부과는 14:00~15:00 사이에 행하였으며 이 시간 동안에는 실험군과 대조군 모두에게 먹이와 물을 주지 않았다.

### 3. 혈액 채취 및 혈청분리

혈청(serum)을 얻기 위해 생쥐를 경추 분리하여 회복한 후 심장에서 혈액을 채취하였다. 채혈시간에 따른 변이를 줄이기 위하여 15:00~16:00 사이에 행하였으며, 채취한 혈액을 실온에서 약 1시간 정지한 후 4°C, 3000 rpm에서 15분간 원심 분리한 다음 상층액을 취하여 혈청을 분리하였다. 분리된 혈청은 실험군간의 변이를 최소화하기 위하여 분 석일 까지 -70°C에 보관하였다.

### 4. 혈청 DHEAS와 Cortisol 분석

혈청 DHEAS농도는 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 procedure를 이용하여 유의성 검정과 Duncan's multiple test를 실시하였다.

## III. 결 과

### 1. 실험 1

대조군에 대한 장기 고온스트레스를 받은 그룹간의 혈청 DHEAS와 cortisol 농도를 측정된 결과는 Table 1과 같다.

#### 1) 장기 고온스트레스에 대한 혈청 DHEAS 농도 변화

Table 1에서 보는 바와 같이 장기 고온스트레스를 받은 모든 실험군에서 대조군(C)과 비교해 혈청 DHEAS 농도가 통계적 유의차이를 보이며 감소하였다( $p < 0.05$ ). 대조군  $5.33 \pm 0.76 \mu\text{g/ml}$ 에 비해 장기 고온스트레스 부과 후 즉시 혈액을 채취한 그룹(LW)에서  $3.22 \pm 0.38 \mu\text{g/ml}$  농도로 유의적인 감소를 보였고( $p < 0.05$ ), 스트레스 부과를 중단하고 4일간의 휴식(LR) 후에도  $3.36 \pm 0.61 \mu\text{g/ml}$

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

	Serum concentrations	
	DHEAS( $\mu\text{g/ml}$ )	cortisol( $\text{ng/ml}$ )
C	$5.33 \pm 0.76^a$	$4.68 \pm 1.28$
LW	$3.22 \pm 0.38^b$	$5.60 \pm 0.77$
LR	$3.36 \pm 0.61^b$	$4.04 \pm 0.74$

<sup>a,b</sup> Means  $\pm$  SEM within a column with different superscripts differ( $p < 0.05$ ).

Abbreviations are C : control group, LW : Long-term(30 minutes a day for 3 weeks) 37°C thermal stressed group, mice were killed without rest, LR : Long-term 37°C thermal stressed group, mice were killed after 4 days' rest.

ml로 약간 상승하였으나 여전히 대조군에 비해 유의적인 감소상태를 유지하였다( $p < 0.05$ ).

#### 2) 장기 고온스트레스에 대한 혈청 cortisol 농도 변화

Table 1에서 보는 바와 같이 대조군  $4.68 \pm 1.28 \text{ ng/ml}$ 에 대하여 장기 고온스트레스 부과 후 즉시 혈액을 채취한 그룹(LW)에서  $5.60 \pm 0.77 \text{ ng/ml}$ 로 약간 상승하는 경향을 보이다가 스트레스 부과를 중단하고 4일간의 휴식(LR)을 주었을 경우  $4.04 \pm 0.74 \text{ ng/ml}$ 로 대조군과 비슷한 수치를 보였으나 이들 모두 통계적 유의차를 나타내지는 않았다.

### 2. 실험 2

대조군에 대한 장기 고온스트레스 기간별, 휴식 기간별 혈청 DHEAS 농도를 측정된 결과는 Table 2와 같다.

#### 1) 스트레스 기간별, 휴식 기간별 혈청 DHEAS 농도 변화

Table 2에서 보는 바와 같이 1주간의 고온스트레스 부과 시에는 대조군에 대한 혈청 DHEAS 농도의 통계적 차이를 보이지 않았으나 2주, 3주간 스트레스를 부과 시 대조군에 대하여 유의적 차이

**Table 2. Changes of serum DHEAS concentrations on term of stress and rest**

	Serum DHEAS concentrations ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	No rest	3 days' rest	7 days' rest	10 days' rest
C	$4.58 \pm 0.37^{a\alpha}$	—	—	—
1 wk	$4.49 \pm 0.18^a$	$4.54 \pm 0.36^a$	$4.32 \pm 0.27^a$	$4.66 \pm 0.45^a$
2 wk	$3.84 \pm 0.31^{ab\alpha\beta}$	$3.47 \pm 0.09^{b\beta}$	$3.40 \pm 0.26^{b\beta}$	$3.24 \pm 0.18^{b\beta}$
3 wk	$3.26 \pm 0.23^{b\beta}$	$2.96 \pm 0.27^{b\beta}$	$3.18 \pm 0.09^{b\beta}$	$3.39 \pm 0.15^{b\beta}$

<sup>a,b</sup> Means  $\pm$  SEM within a column with different superscripts differ ( $p < 0.05$ ).

<sup>$\alpha,\beta$</sup>  Means  $\pm$  SEM within a row with different superscripts differ ( $p < 0.05$ ).

Abbreviations are C : control, 1 wk : 37°C thermal stress for 30 minutes a day for 1 week, 2 wk : 37°C thermal stress for 30 minutes a day for 2 weeks, 3 wk : 37°C thermal stress for 30 minutes a day for 3 weeks.

를 보이며 감소하였다( $p < 0.05$ ).

휴식 기간별 차이를 관찰한 결과, 대조군  $4.58 \pm 0.37 \mu\text{g/ml}$ 에 대하여 2주, 3주간 스트레스를 부과한 그룹에 있어 스트레스 소멸 후 10일 간의 휴식 후에도  $3.24 \pm 0.18 \mu\text{g/ml}$ ,  $3.39 \pm 0.15 \mu\text{g/ml}$ 로 감소상태를 유지하였다( $p < 0.05$ ).

#### IV. 고 찰

지금까지 대부분의 스트레스에 대한 연구가 스트레스 부과 직후에 채취한 혈액에서의 내분비 변화를 살펴보는 데 그침으로써 정확한 스트레스 상태를 파악하기 어려웠으므로 본 연구는 스트레스 부과에 따른 누적효과를 보이는 내분비물질을 찾아 보다 정확한 스트레스 측정방법을 얻고자 실시하였다. 실험 1)에서는 매일 30분씩 3주간 장기 고온스트레스 부과 후 4일간 휴식을 준 생쥐에서의 DHEAS 및 cortisol의 변화를 관찰 비교하였다. 그 결과, cortisol은 대조군에 비해 장기 고온스트레스 후 즉시 혈액을 채취한 그룹(LW)에서 약간 증가하는 경향을 보였으나 유의차가 없었으며, 4일간의 휴식(LR)을 주었을 경우 대조군(C)과 비슷하게 회복되었다. 이에 반해 DHEAS는 장기고온스트레스 부과 후 즉시 혈액을 채취한 그룹(LW)에서 대조군에 비해 유의적인 감소를 관찰할 수 있었으며 ( $p < 0.05$ ), 4일간의 휴식(LR)을 주었음에도 불구하

고 다소 상승하는 경향은 보였으나 여전히 대조군에 비해 유의적인 감소상태를 유지하였다( $p < 0.05$ ). 이러한 결과는 Kimonides 등(1998)의 연구에서 스트레스에 반응하여 부신에서 DHEAS가 감소되었다고 한 결과와 일치하였다. 실험 2)는 실험 1)을 근거해 실험을 더욱 세분화시킨 것으로 37°C 고온스트레스를 매일 30분씩 1주간, 2주간, 3주간 부과한 그룹에서의 휴식 기간별 차이를 측정하였다. 그 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 스트레스 기간이 길어질수록 혈청 DHEAS 농도가 감소됨을 관찰할 수 있었으며, 10일 간의 휴식을 주었음에도 2주간, 3주간 부과한 그룹에 있어 대조군에 비해 여전히 낮은 농도를 유지함( $p < 0.05$ )을 관찰할 수 있었는데, 이는 실험 1)의 결과와 유사하였다. 1주간 스트레스를 주었을 경우 대조군에 대한 유의적 차이를 나타내지 않았으나 2주간, 3주간 부과한 그룹에서는 대조군에 대하여 유의적 차이를 나타내었는데, 이는 DHEAS가 단기간의 자극에서 보다 장기적인 자극에 유의적으로 반응하는 것으로 사료된다. 이러한 결과로 보아 cortisol을 이용하여 스트레스를 측정하던 기존의 방식은 장기 스트레스나 스트레스가 사라진 후 이를 측정함에 있어 정확한 측정이 어려웠던 반면, DHEAS는 장기간의 스트레스나 스트레스가 사라진 후에도 유의적인 차이를 유지함으로써 스트레스 측정에 DHEAS를 이용할 경우 보다 정확하고 안정적인 측정이 가능할 것으로 사료된다.

## V. 요약

본 연구에서는 half-life가 긴 DHEAS를 스트레스 관련 호르몬으로 보고 다음과 같은 실험을 실시하였다. 실험 1) 매일 30분씩 3주간 장기 고온스트레스 부과 후 4일간의 휴식을 준 생쥐에서의 DHEAS 변화를 관찰하여 이를 cortisol과 비교하였다. 그 결과 cortisol의 경우 장기 고온스트레스 부과 후 즉시 혈액을 채취한 그룹(LW)과 4일간의 휴식 후 혈액을 채취한 그룹(LR) 모두 대조군(C)에 비해 유의적 차이를 나타내지 않았다. 이에 반해 DHEAS는 장기 고온스트레스 부과 후 즉시 혈액을 채취한 그룹(LW)에서 대조군에 비해 유의적인 감소( $p < 0.05$ )를 보였으며, 4일간의 휴식(LR)을 준 후에도 여전히 유의적인 차이를 유지하였다( $p < 0.05$ ). 실험 2) 고온스트레스를 매일 30분씩 1주간, 2주간, 3주간 부과한 그룹에서의 휴식 기간별 혈청 DHEAS농도 차이를 측정하였다. 그 결과 스트레스 기간이 길어질수록 혈청 DHEAS농도가 감소되는 경향을 나타내었으며, 10일간의 휴식을 주었음에도 2주간, 3주간 부과한 그룹에서 여전히 대조군에 비해 낮은 농도를 유지하였다( $p < 0.05$ ). 이러한 결과로 보아 cortisol을 이용한 기존방식은 스트레스가 사라진 후의 상태를 파악하는데 어려움이 있었던데 반해, DHEAS는 변화된 상태를 지속적으로 유지함으로써 스트레스가 사라진 후의 상태를 파악하는데 적합한 호르몬으로 판단된다.

## VI. 인용문헌

1. Berg, J.P., Engeland, A., Jellum, E. and Glatte, E. 1999. Serum dehydroepiandrosterone sulfate concentration and thyroid cancer risk: a matched case control study. *Thyroid*, 9(3):285-288.
2. Bird, C.E., Murphy, J., Boroomand, K., Finnis, W., Dressel, D. and Clark, A.F. 1978. Dehydroepiandrosterone: kinetics of metabolism in normal men and women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 47(4):818-822.
3. Gordon, G.B., Helzlsouer, K.J., Alberg, A.J. and Comstock, G.W. 1993. Serum levels of dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate and the risk of developing gastric cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2(1):33-35.
4. Goulding, N.J. and Guyre, P.M. 1993. Glucocorticoids, lipocortins and the immune response. *Curr. Opin. Immunol.*, 5(1):108-113.
5. Guazzo, E.P., Kirkpatrick, P.J., Goodyer, I.M., Shiers, H.M. and Herbert, J. 1996. Cortisol, dehydroepiandrosterone (DHEA), and DHEA sulfate in the cerebrospinal fluid of man: relation to blood levels and the effects of age. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 81(11):3951-3960.
6. Kahn, J.P., Rubinow, D.R., Davis, C.L., Kling, M. and Post, R.M. 1988. Salivary cortisol: a practical method for evaluation of adrenal function. *Biol Psychiatry*, 15;23(4):335-349.
7. Kimonides, V.G., Khatibi, N.H., Svendsen, C.N., Sofroniew, M.V. and Herbert, J. 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.
8. Lee, J., Sepulveda, R.T., Jiang, S., Zhang, Z., Insera, P., Zhang, Y., Hosseini, S. and Watson, R.R. 1999. Immune dysfunction during alcohol consumption and murine AIDS: the protective role of dehydroepiandrosterone sulfate. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 23(5):856-862.
9. Lobo, R.A., Kletzky, O.A., Kaptein, E.M. and Goebelsmann, U. 1980. Prolactin modulation of dehydroepiandrosterone sulfate secretion. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 138(6):632-636.
10. Loviselli, A., Pisanu, P., Cossu, E., Caradonna, A., Massa, G.M., Cirillo and Balestrieri, A. 1994. Low levels of dehydroepiandrosterone sulfate in adult males with insulin-dependent

- diabetes mellitus. *Minerva. Endocrinol.*, 19(3): 113-119.
11. Obut, T.A. 1998. Dehydroepiandrosterone, reticular area of adrenal cortex and resistance to stress and disease. *Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk.*, (10):18-22.
  12. Opstad, K. 1994. Circadian rhythm of hormones is extinguished during prolonged physical stress, sleep and energy deficiency in young men. *Eur. J. Endocrinol.*, 131(1):56-66.
  13. Parker, C.R. 1999. Dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate production in the human adrenal during development and aging. *Steroids*, 64(9):640-647.
  14. SAS. 1992. SAS/STAT Software for PC. Release 6.12, SAS Institute, Cary, NC, U.S.A.
  15. Yamauchi, A., Takei, I., Kasuga, A., Kitamura, Y., Ohashi, N., Nakano, S., akayama, S., Nakamoto, S., Katsukawa, F. and Saruta, T. 1996. Depression of dehydroepiandrosterone in Japanese diabetic men--comparison between non- insulin-dependent diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. *Eur. J. Endocrinol.*, 135(1):101-104.
- (접수일자 : 2000. 7. 19. / 채택일자 : 2000. 9. 22.)