

## 마우스에서 vitamin E의 장·단기적 항스트레스 효과

이승진<sup>1</sup> · 고민석<sup>1</sup> · 강상모<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>건국대학교 대학원 생물공학과, <sup>2</sup>건국대학교 미생물공학과

## Anti-stress Effect during Long and Short-Term of Vitamin E in Mice

Seung Jin Lee<sup>1</sup>, Min Seok Go<sup>1</sup>, and Sang Mo Kang<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Bioengineering at the Postgraduate School, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

<sup>2</sup>Department of Microbial Engineering, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

Received September 9, 2008; Accepted October 30, 2008

This study was to evaluate the protective effect of vitamin E against long and short-term stress in ICR mice. Two groups which had been bred for 5 months (equivalent to human beings aged 20) were treated by immobilization stress for 8 weeks with or without vitamin E, and one out of two groups was continuously bred until they become 18 months old (equivalent to human senescence) with or without Vitamin E. Afterwards, the changes of serum and hepatic metabolites were investigated on the basis of the index of stress-related *in vivo* oxidative damage. As a result, it was found that stress increases serum triacylglycerol and aspartate aminotransferase (AST) in the long and short-term, and decreases serum HDL-cholesterol. In addition, stress concerned the decrease of total antioxidant status (TAS) and superoxide dismutase (SOD) as well as the increase of malondialdehyde (MDA) in liver. These results suggest that stress in one's youth causes negative results in TG, HDL-cholesterol, AST, TAS, SOD and MDA measured in one's senescent. The administration of vitamin E in the stressed mice decreases serum TG and AST that are increased by stress, and exerts influence on the increase of serum HDL-cholesterol. Also vitamin E recovered the values of liver TAS, SOD and MDA in the stressed mice. In conclusion, vitamin E represented protective effect in the stressed mice to some degree.

**Key words:** liver tissue, serum, stress, vitamin E

### 서 론

일상생활 속에서 받게 되는 다양한 자극 중에서 우리 몸에 피로움, 두려움, 불안감, 긴장감 등을 줄 때 이러한 원인을 스트레스원(stressor)이라고 하며, 이때 분비되는 스트레스 호르몬들이 여러 기관에 영향을 미치게 되는데 이러한 일련의 정신생리 현상을 스트레스(stress)라고 한다. 스트레스에 대한 반응은 시상하부 → 뇌하수체 → 부신피질 (hypothalamic-pituitary-adrenocortical. HPA)축과 교감신경→부신계(sympathetic-adrenal medullary. SAM)를 활성화시켜 각각 glucocorticoids와 catecholamines을 증가시킨다.<sup>1,2)</sup> Catecholamines이 과부하 상태에 이르게 되면 superoxide radical(O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)와 hydroxyl radical(OH·) 등의 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)이 전자전달계의 부산물로 생성된다.<sup>3)</sup> 그

러나 다행스럽게도 인체는 ROS에 대한 효과적인 항산화 효소로 superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT), glutathione peroxidase(GSH-Px) 등을 가지고 있다.<sup>4)</sup>

그러나 인체가 기본적으로 지니고 있는 항산화 기능만으로는 특수한 상황에서 증가된 산소유리기를 제거하기 어려우므로 그 대안으로서 추가적인 항산화 물질을 섭취하게 되는데, 대표적인 항산화물이 vitamin E( $\alpha$ -tocopherol)로 알려져 있다.<sup>5,6)</sup> Vitamin E는 혈액 및 조직 내에 존재하는 중요한 지용성 화합물로서 산화적 연쇄반응을 저지하는 항산화제로 알려져 있으며, vitamin E가 항산화 활성이 큰 이유는 peroxy-radical을 빠르게 포착하여 vitamin E radical을 형성하는 속도가 과산화지질의 연쇄반응 속도를 초월하기 때문이다. Vitamin E는 주로 세포막내에 존재하지만, 산화적 스트레스에 의한 세포막 내부와 외부의 연쇄적인 산화 반응을 직접적으로 억제하는 역할을 한다.<sup>7)</sup> 특히 vitamin E는 여러 요인으로 발생하는 산화적 스트레스를 유의적으로 감소시키는 중요한 기능을 가지고 있을 뿐 아니라 vitamin E radical은 vitamin C 및 glutathione과 상호작용하여 vitamin E로 전환될 수 있다.<sup>8)</sup>

이상과 같이 스트레스로 인한 활성산소의 생성에 vitamin E

\*Corresponding author

Phone: +82-2-450-3524, Fax: +82-2-3437-8360

E-mail: kangsm@konkuk.ac.kr

가 효과적인 비효소계 항산화제임을 알 수 있으며, 지금까지 일시적 스트레스 직후 체내 손상 시 vitamin E가 혈중 항산화효소 활성도에 미치는 영향에 관한 연구는 다수 보고되어 있으나,<sup>5,8)</sup> 스트레스를 받은 후에 나타나는 장기적인 변화에 대한 vitamin E의 작용 및 인체 내 손상과 회복에 관해서는 연구가 거의 이루어지지 않았다.

따라서 본 연구에서는 ICR 마우스를 사람의 나이 20대에 해당되는 5개월까지 사육하여, 8주간의 스트레스를 가한 후 사람의 나이 노년기에 해당되는 18개월 될 때까지 사육하여<sup>9)</sup> 스트레스로 인한 생체내의 산화적 손상지표 변화를 보아 사람의 나이 20대에 받은 스트레스가 노년기인 60대 이상에 접어들었을 때에 혈청과 간의 대사산물 변화에 있어 vitamin E의 보호 효과를 살펴보고자 하였고, 이를 위하여 마우스의 수명은 20개월로,<sup>9)</sup> 사람의 수명은 80세로 가정하였다.

### 실험 방법 및 내용

**실험동물의 사육 및 식이.** 실험동물은 생후 4주령의 ICR 계열의 숫컷 마우스로 Japan SLC, Inc.로부터 분양받아 실험실 환경(온도는 22±2°C, 습도 45%)에서 자유식으로 사육하였다. 일반 고형사료로 1주일간 적응시킨 후 난괴법에 의해 5개월간 사육하여 8주간 스트레스를 가할 마우스의 경우 15마리씩 4개의 군으로 분류하였으며, 5개월까지 사육하여 8주간 스트레스를 가한 후 총 18개월간 사육할 마우스의 경우 20마리씩 4개의 군으로 나누었다. 식이 섭취를 위한 vitamin E로서  $\alpha$ -tocopherol acetate를 Sigma사(St. Louis, Missouri, USA)로부터 공급받았으며, 식이 섭취량은 실험군 사료에  $\alpha$ -tocopherol acetate를 5g/50g의 비율로 섞어 하루 0.4±0.6g씩 섭취할 수 있도록 하였다.

**스트레스 처리 방법.** 스트레스 없이 7개월간 사육한 대조군(C-7)과 5개월간 사육하여 8주 동안 스트레스를 가한 스트레스 실험군(S-7), 스트레스 없이 vitamin E를 식이한 대조군(E-7)과 8주 동안 스트레스를 가하며 vitamin E를 식이한 스트레스 실험군(S+E-7), 18개월 동안 스트레스 없이 사육한 대조군(C-18), 5개월간 사육하여 8주간의 스트레스 후 총 18개월 동안 스트레스 없이 사육한 실험군(S-18), 18개월 동안 스트레스 없이 vitamin E를 식이한 대조군(E-18), 5개월간 사육하여 8주간의 스트레스 후 총 18개월 동안 스트레스 없이 vitamin E를 식이한 실험군(S+E-18)으로 분류하였다.

실험동물의 스트레스 모델로는 immobilization stress(부동화 스트레스)를 실시하였다. 모든 스트레스 부하는 흰쥐의 활동이 활발한 밤주기(어두운 상태)에 실시하여 부동화시키므로써 스트레스를 배가하고자 하였다. 스트레스 부하군의 피험동물은 스트레스 case (10 cm×25 cm)에 넣고 거꾸로 세운 상태로 40분간 유지시켰다.<sup>10)</sup> 대조군과 스트레스 부하군은 희생 후 혈액 및 장기를 채취하여 스트레스 효과를 확인하였다.

**실험동물의 희생과 조직의 적출.** 실험동물의 혈액을 채취하기 위하여 실험 종료 12시간 절식 후 diethyl ether로 마취하여 심장에서 혈액을 취하였다. 채취한 혈액은 1시간 방치한 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리하고, 분석 전

까지 -80°C에서 냉동 보관하였으며, 채혈 후 즉시 간을 분리 적출하였다.

**혈청 성분 분석.** 혈청 중 triacylglycerol, HDL-cholesterol, aspartate aminotransferase(AST) 농도는 측정용 kit(Bayer, NY, USA)를 이용하여 자동분석기 ADVIA 1650(Bayer, USA)을 이용하여 분석하였다.

**간조직 성분 분석.** 간조직 내 total antioxidant status(TAS)는 TAS kit(RANDOX Laboratories Ltd, Ardmore, UK)를 이용하여 Hitachi 7150(Hitachi, Japan)으로 분석하였다. SOD측정은 SOD kit(Cayman, USA)를 이용하여 EIA reader(Molecular device, USA)로 분석하였다. Malondialdehyde(MDA) 측정은 BIOXTECH LPO-586 assay kit를 사용하여 측정하였다.

**통계분석.** 실험한 결과의 통계처리는 SPSS program를 이용하여 각 실험군의 평균과 표준 편차로 나타냈으며, 7개월과 18개월의 변화는 t 검정(paired t-test)을 실시하였고, 각 군의 비교는 유의수준은  $p < 0.05$ 에서 One-way ANOVA test로 나타내었으며, 유의성 검증은 Duncan's multiple range test를 이용하였다.

### 결과 및 고찰

**혈청 TG 함량 변화.** 5개월 된 마우스에 8주간 스트레스를 가한 후 바로, 혹은 총 18개월 사육 후 혈청 중 TG의 함량을 측정하였다. 결과는 Table 1과 같다. 7개월 사육된 스트레스군인 S-7군이 474.92 mg/dl로, 대조군인 C-7군에 비해 127% 유의적으로 증가하였으며, 스트레스를 가할 때 vitamin E를 투여한 S+E-7군은 381 mg/dl로 스트레스군에 비해 19% 유의적으로 감소하였다. 또한 7개월과 18개월 그룹의 스트레스군인 S-7군이 474.92 mg/dl, S-18군이 537.08 mg/dl( $t = -5.273$ )로 유의적 차이를 보였으며, 스트레스를 가할 때 vitamin E를 투여한 S+E-7군이 381 mg/dl, S+E-18군이 434.31 mg/dl( $t = -3.645$ )로 유의적 차이를 보였다.

혈중 TG의 함량이 스트레스에 의해 유의적으로 증가되어 Kissebah<sup>11)</sup>의 선행연구와 같은 결과를 나타내었는데, 이는 Howard 등<sup>12)</sup>의 보고와 같이 스트레스가 세포내 지질농도를 조절하는 대식세포(macrophage)에 영향을 미쳐 TG의 함량이 증가된 것으로 보인다. Vitamin E 투여군이 스트레스 군에 비해 TG의 함량이 유의적으로 낮은 것으로 나타난 것은 vitamin E가 생체 내 지질과산화에 대한 방어기구를 강화시킴으로써 조직의 과산화적 손상을 완화시키는데 기여한 결과로 사료된다.<sup>13)</sup> 이러한 결과는 vitamin E가 스트레스로 인해 높아진 TG를 정상수준으로 회복시키는데 긍정적인 효과를 보인다는 Gittleman 등<sup>14)</sup>의 선행연구의 결과와 일치한다.

또한 사람 나이 20대에 해당하는 7개월 그룹의 스트레스군인 S-7군과 스트레스를 가할 때 vitamin E를 투여한 S+E-7군보다 사람 나이 60대 이상인 노년기에 해당하는 18개월 그룹의 스트레스군인 S-18군과 스트레스를 가할 때 vitamin E를 투여한 S+E-18군보다 TG의 함량이 유의적으로 높은 것으로 보아 젊었을 때 받은 스트레스가 노년기에도 TG 농도를 높이는 데 영향을 준 것으로 사료되었다. 이를 통해 스트레스는 TG의 함량을 증가시키고, vitamin E는 높아지는 TG를 회복하는데 도

**Table 1. The serum triglyceride of ICR mice that were treated by immobilization stress with or without vitamin E**

Groups	7 months	18 months	t <sup>2)</sup>
C	208.42±18.12 <sup>c,1)</sup>	211.00±21.28 <sup>c</sup>	-0.365
E	211.55±22.73 <sup>c</sup>	219.91±28.26 <sup>c</sup>	-0.842
S+E	381.00±54.12 <sup>b</sup>	434.31±78.93 <sup>b</sup>	-3.645 <sup>*,3)</sup>
S	474.92±30.84 <sup>a</sup>	537.08±42.08 <sup>a</sup>	-5.273 <sup>***</sup>

Notes: C; control, E; vitamin E, S+E; stress plus vitamin E, S; stress.

<sup>1)</sup>Mean with different superscripts in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. Values are mean±S.D. (n=12)

<sup>2)</sup>t-test

<sup>3)</sup>\*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$

음을 주는 것을 알 수 있었다. 따라서 한때 어느 정도의 스트레스는 시간이 지난 노년기에도 TG를 그대로 증가시키는데 영향을 주는 것으로 판단된다.

**혈청 HDL-cholesterol 함량 변화.** 앞의 TG 함량 분석에서 사용된 혈청으로 HDL-cholesterol의 함량을 측정하였다. 결과는 Table 2와 같다. 7개월 그룹의 스트레스군인 S-7군은 43.26 mg/dl로 대조군보다 17% 유의적으로 감소하였으며, 스트레스를 가하면서 vitamin E를 투여한 S+E-7군은 70.11 mg/dl로 스트레스군보다 62% 유의적으로 증가하였다. 7개월과 18개월 그룹의 스트레스군인 S-7군은 43.26 mg/dl, S-18군은 39.84 mg/dl ( $t=15.846$ )로 S-18군이 7.9% 감소하여 유의적 차이를 보였고, 대조군인 C-7군, C-18군에서는 거의 차이가 없었으며, S+E-7군과 S+E-18군 사이에서도 유의적 차이가 없었다. 또한 vitamin E를 투여한 E-7군과 E-18군 모두 대조군인 C-7군보다 유의적으로 높은 값을 보였다.

혈중 HDL-cholesterol의 농도가 스트레스로 인하여 유의적으로 저하되는 것으로 나타나 Lehtonen<sup>15)</sup>의 선행연구와 같은 결과를 얻었다. 이는 Howard 등<sup>12)</sup>의 연구와 같이 스트레스의 영향으로 대식세포가 산화 LDL-cholesterol에 대하여 조절능력을 상실하여 대식세포 내 지질과산화물의 축적과 콜레스테롤의 계속된 축적이 들어가 결국 HDL-cholesterol의 변이를 일으켜 농도가 감소된 것으로 보인다.

또한 Table로 만들지는 않았으나 7개월과 18개월 그룹에서 LDL-cholesterol의 혈중 농도를 측정한 결과 C-7군은 25.14 mg/dl, E-7군은 23.25 mg/dl, S+E-7군은 40.12 mg/dl, S-7군은 43.18 mg/dl, 로 E-7군이 스트레스군인 S-7군보다 46% 감소하였으며, 18개월 그룹에서도 vitamin E 투여군들이 상대적으로 감소하는 동일한 결과를 보였다. 이러한 결과는 vitamin E가 소위 악성 콜레스테롤인 LDL-cholesterol의 혈중 농도를 감소시킨 결과로 보이며, 이는 vitamin E가 심혈관계 질환을 예방하는 활성이 있다는 것을 의미한다.<sup>16)</sup>

스트레스군에서 사람의 나이 노년기에 해당하는 18개월 마우스가 사람 나이 20대에 해당하는 스트레스 마우스보다 HDL-cholesterol 농도가 유의적으로 감소한 것을 통해, 젊었을 때의 스트레스가 TG 함량을 높였던 것과 같이 노년기 HDL-cholesterol 농도 감소에도 영향을 미친 것으로 보인다. 또한 18개월 사육하며 스트레스를 가할 때 vitamin E를 투여한 S+E-18군이 스트레스군인 S-18군에 비해 HDL-cholesterol 농도가

**Table 2. The serum HDL-cholesterol of ICR mice that were treated by immobilization stress with or without vitamin E**

Groups	7 months	18 months	t <sup>2)</sup>
C	52.16±6.12 <sup>b,1)</sup>	54.83±3.19 <sup>c</sup>	-0.737
E	73.24±6.03 <sup>a</sup>	64.12±4.10 <sup>b</sup>	5.948 <sup>*,3)</sup>
S+E	70.11±4.98 <sup>a</sup>	69.21±4.11 <sup>a</sup>	1.836
S	43.26±3.74 <sup>c</sup>	39.84±2.96 <sup>d</sup>	15.846 <sup>**</sup>

Notes: C; control, E; vitamin E, S+E; stress plus vitamin E, S; stress.

<sup>1)</sup>Mean with different superscripts in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. Values are mean±S.D. (n=12)

<sup>2)</sup>t-test

<sup>3)</sup>\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$

**Table 3. The serum aspartate aminotransferase of ICR mice that were treated by immobilization stress with or without vitamin E**

Groups	7 months	18 months	t <sup>2)</sup>
C	29.08±3.82 <sup>c,1)</sup>	31.75±4.03 <sup>c</sup>	-1.434
E	29.73±5.24 <sup>c</sup>	32.36±2.94 <sup>c</sup>	-1.256
S+E	43.77±8.22 <sup>b</sup>	43.08±5.66 <sup>b</sup>	.337
S	49.67±6.69 <sup>a</sup>	54.42±3.37 <sup>a</sup>	-2.077

Notes: C; control, E; vitamin E, S+E; stress plus vitamin E, S; stress.

<sup>1)</sup>Mean with different superscripts in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. Values are mean±S.D. (n=12)

<sup>2)</sup>t-test

73% 유의적으로 증가한 것을 통해, vitamin E가 HDL-cholesterol 증가에 긍정적인 효과를 가지는 것으로 보인다.

Vitamin E만을 투여한 E-18군이 대조군인 C-18군보다 HDL-cholesterol 농도가 16% 높은 것으로 나타나 스트레스가 없을 때도 vitamin E는 섭취한 만큼 그 후에도 HDL-cholesterol에 좋은 영향을 미치는 것으로 나타났다. 스트레스 없이 vitamin E 투여 후 장시간 뒤에도 vitamin E가 HDL-cholesterol에 좋은 영향을 미치는 것은 좀 더 연구 검토되어야 할 것이다.

**혈청 AST 함량 변화.** TG 함량과 HDL-cholesterol의 함량 분석에 사용된 혈청으로부터 간조직의 손상지표로 사용되는 AST<sup>17)</sup>의 함량을 측정하였다. 결과는 Table 3과 같다. 7개월 그룹의 스트레스군인 S-7군이 49.67  $\mu$ l/로 대조군인 C-7군에 비해 70% 유의적으로 증가하였으며, 스트레스를 가하면서 vitamin E를 투여한 S+E-7군은 43.77  $\mu$ l/로 스트레스군인 S-7군에 비해 11% 유의적으로 감소하였다.

스트레스로 인한 AST의 함량증가는 스트레스를 받게 되면 생체 내 생리변화로 혈액에서 AST가 증가한다는 Woo<sup>18)</sup>의 연구와 AST는 조직 장애가 생기면 혈중 효소로 유출되며 스트레스를 받거나 shock를 받은 경우도 증가한다고 한 John<sup>19)</sup>의 선행연구와 같다. 7개월과 18개월 그룹의 스트레스군인 S-7군이나 S-18군에서는 TG나 HDL과는 달리 서로 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 이러한 결과는 간의 재생효과로<sup>22)</sup> 스트레스로 인해 간세포가 어느 정도 파괴되더라도 다시 부분적으로 회복되는 특성 때문인 것으로 판단된다.

7개월과 18개월 그룹의 vitamin E 투여군이 스트레스군보다 유의적으로 낮은 값을 보여, vitamin E가 AST 함량 증가에 대한 억제효과를 보이는 것으로 나타났으며, 이는 vitamin E가 스

**Table 4. The liver tissue total antioxidant of ICR mice that were treated by immobilization stress with or without vitamin E**

Groups	7 months	18 months	t <sup>2)</sup>
C	15.63±1.36 <sup>b,1)</sup>	13.26±0.84 <sup>b</sup>	2.783 <sup>*,3)</sup>
E	16.25±2.12 <sup>a</sup>	15.36±1.06 <sup>a</sup>	4.214 <sup>*</sup>
S+E	14.81±2.30 <sup>b</sup>	12.89±2.46 <sup>b</sup>	2.245
S	9.32±2.30 <sup>c</sup>	7.86±1.92 <sup>c</sup>	6.152 <sup>**</sup>

Notes: C; control, E; vitamin E, S+E; stress plus vitamin E, S; stress.  
<sup>1)</sup>Mean with different superscripts in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. Values are mean±S.D. (n=12)  
<sup>2)</sup>t-test  
<sup>3)</sup>\*,  $p < 0.05$ , \*\*,  $p < 0.01$

**Table 5. The liver tissue superoxide dismutase of ICR mice that were treated by immobilization stress with or without vitamin E**

Groups	7 months	18 months	t <sup>2)</sup>
C	97.15±5.12 <sup>b,1)</sup>	90.01±3.91 <sup>a</sup>	4.837 <sup>***,3)</sup>
E	112.61±6.24 <sup>a</sup>	80.12±3.72 <sup>b</sup>	11.217 <sup>***</sup>
S+E	80.12±6.13 <sup>c</sup>	71.21±5.32 <sup>c</sup>	6.341 <sup>**</sup>
S	62.35±8.21 <sup>d</sup>	41.20±4.16 <sup>d</sup>	4.016 <sup>*</sup>

Notes: C; control, E; vitamin E, S+E; stress plus vitamin E, S; stress.  
<sup>1)</sup>Mean with different superscripts in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test. Values are mean±S.D. (n=12)  
<sup>2)</sup>t-test  
<sup>3)</sup>\*,  $p < 0.05$ , \*\*,  $p < 0.01$ , \*\*\*,  $p < 0.001$

트레스로 인한 심근경색이나 용혈성 질환을 어느 정도 보호<sup>21,22)</sup> 할 수 있을 것으로 사료되었다.

**간 조직 TAS 함량 변화.** 앞에서 5개월 된 마우스에게 8주간 스트레스를 가한 후 바로, 혹은 총 18개월 사육 후 혈청 중 TG, HDL-cholesterol 그리고 AST의 함량을 보았다. 여기서는 이들 마우스의 간 성분 변화들을 보았다. 간의 TAS 함량 측정 결과는 Table 4와 같다. 7개월 스트레스군인 S-7군이 9.32 mmol/l로 대조군인 15.63 mmol/l에 비해 67% 유의적으로 감소하였으며, 스트레스를 가하면서 vitamin E를 투여한 S+E-7군이 14.81 mmol/l로 스트레스군에 비해 58% 유의적으로 증가하였다. 7개월과 18개월 스트레스군인 S-7군은 9.32 mmol/l, S-18군은 7.86 mmol/l ( $t=6.152$ )로 유의적 차이를 보였다. 또한 vitamin E 투여군인 E-7군과 E-18군 모두 대조군인 C-7군과 C-18군보다 유의적으로 높은 값을 보였다.

TAS의 경우 7개월 그룹과 18개월 그룹의 스트레스군에서 TAS의 함량이 유의적으로 낮게 나타났다. 이러한 결과는 Lovin<sup>23)</sup>의 보고와 같이 스트레스로 인해 ROS가 생성되고 각종 세포들과 반응하여 간조직 세포의 구조적·기능적 변화를 가져와 세포막이 파괴되고 세포내 SOD와 GSH-Px도 부분적으로 파괴된 결과로 보인다. S-18군에서는 C-18군, S+E-18군, E-18군의 값보다 TAS 함량이 50% 이하로 떨어졌으며, 이는 5개월령의 마우스에 8주간 가한 스트레스로 인하여 항산화 시스템에 관련된 DNA에 나타난 변이가 복구되지 않았기 때문으로 유추된다.<sup>24,25)</sup> 스트레스를 가하면서 vitamin E를 투여한 S+E-7군, S+E-18군들에서 TAS 농도 증가는 비효소계 산화물인 vitamin E가 세포의 구조적 파괴를 저해한 결과로 판단된다. 또한 세포에서는 에너지를 만들 때 자연적으로 활성산소가 만들어지며 이중 일부가 세포를 파괴하는데,<sup>24)</sup> E-7군이 C-7군보다 TAS 값이 유의적으로 높은 것은 vitamin E가 자연적으로 발생하는 활성산소를 어느 정도 제거하였기 때문이다. E-18군도 C-18군보다 TAS 값이 유의적으로 높는데 이것은 8주간 vitamin E를 투여하는 동안 조직이 덜 파괴된 것이 그 섭취기간 만큼 노후에도 영향을 미쳐 나타난 결과로 판단되었다.

**간 조직 SOD 함량 변화.** 앞의 TAS 함량 분석에 사용된 간으로 SOD 함량을 보았다. 활성산소 제거 역할을 하는 효소로 알려진 SOD<sup>26)</sup>의 측정 결과는 Table 5와 같다. 7개월 스트레스군인 S-7군이 62.35 μ/ml로 대조군인 C-7군에 비해 35% 유의적으로 감소하였고, 스트레스를 가하면서 vitamin E를 투여한

S+E-7군은 80.12 μ/ml로 스트레스군인 S-7군에 비해 28% 유의적으로 증가하였다. 7개월과 18개월 그룹의 스트레스군인 S-7군은 62.35 μ/ml, S-18군은 41.20 μ/ml ( $t=4.016$ )로 유의적 차이를 보였으며, S-18군은 대조군인 C-18군의 SOD 값이 감소되는 것에 비해 54% 더 감소되었다.

SOD의 감소는 스트레스로 인해 SOD가 손상받는다라는 Yun 등<sup>27)</sup>의 선행연구결과와 같다. 이는 스트레스가 불포화지방산 함량이 높은 생체막에 과산화적 손상을 가속화시켜 항산화효소인 SOD활성에 영향을 미친 것으로 판단되며, 스트레스와 vitamin E 혼합군에서 SOD의 증가는 vitamin E가 생체막에 다량 존재하는 다불포화지방산에 대해 항산화제로 작용하여 세포막의 소기관들을 과산화로부터 방어하는데 기여한 결과로 보인다.<sup>28)</sup> 7개월과 18개월 그룹의 스트레스군인 S-7군과 S-18군의 유의적 차이를 통해 20대에 받은 스트레스가 TG, TAS, HDL-cholesterol과 같이 노년기의 SOD 감소에도 부정적 영향을 미치는 것으로 나타났다.

그리고 vitamin E를 투여한 E-7군이 대조군인 C-7군보다 높은 값을 보인 것은 SOD를 측정할 때 vitamin E의 존재로 SOD 값이 보다 높게 측정된 것으로 생각되며,<sup>24)</sup> E-18군이 C-18군보다 낮은 값을 보이는 것은 vitamin E의 투여로 SOD 유도능이 감소된 결과로 생각해 볼 수도 있겠으나 검토키가 더 필요하다.

**간 조직 MDA 함량 변화.** MDA는 체내의 산화 스트레스를 측정하기 위한 지표의 하나로 지질과산화과정 중 생성되는 이차지질과산화물의 일종이다.<sup>29)</sup> 앞의 TAS, SOD 함량 분석에 사용된 간으로 MDA 함량을 측정하였다. 결과는 Table 6과 같다. 7개월 스트레스군인 S-7군이 8.98 nmol/l로 대조군인 C-7군보다 84% 증가하였고, 스트레스를 가하면서 vitamin E를 투여한 S+E-7군이 7.98 nmol/l로 스트레스군보다 11% 감소하는 효과를 볼 수 있었다. S+E-7군은 스트레스군인 S-7군에 비해, S+E-18군은 스트레스군인 S-18군에 비해 유의적으로 낮은 값을 나타내었다. 또한 대조군인 C-18군은 C-7군보다 20% 유의적으로 높은 값을 보였다.

사람나이 20대에 해당하는 7개월 그룹의 스트레스 군에서 MDA수치가 유의적으로 높게 나타나 스트레스로 MDA 함량이 증가한다는 Bedossa P 등<sup>30)</sup>의 선행연구와 같은 결과를 얻을 수 있었다. 스트레스를 전혀 가하지 않고 vitamin E만을 투여한 E-8군은 5.86 nmol/l로 대조군에 비해 유의적으로 높게 나타났

**Table 6. The liver tissue malondialdehyde of ICR mice that were treated by immobilization stress with or without vitamin E**

Groups	7 months	18 months	t <sup>2)</sup>
C	4.86±0.91 <sup>d,1)</sup>	5.85±0.71 <sup>c</sup>	-8.962 <sup>***3)</sup>
E	5.86±0.74 <sup>c</sup>	5.97±0.69 <sup>c</sup>	0.215
S+E	7.98±0.69 <sup>b</sup>	8.13±0.91 <sup>b</sup>	-0.816
S	8.98±0.71 <sup>a</sup>	9.10±0.83 <sup>a</sup>	-0.342

Notes: C; control, E; vitamin E, S+E; stress plus vitamin E, S; stress.

<sup>1)</sup>Mean with different superscripts in the same column are significantly different ( $p<0.05$ ) by Duncan's multiple range test. Values are mean±S.D. (n=12)

<sup>2)</sup>t-test

<sup>3)</sup>\*\*\*.  $p<0.001$

고, 이러한 현상은 vitamin E의 투여가 간독성을 유발시켜 나타난 결과로 판단된다. 즉 vitamin E가 스트레스보다는 적은 정도로 간에 영향을 미쳐, S+E-7군이 스트레스군인 S-7군에 비해 유의적으로 MDA값이 낮았으며 대조군 C-7에 비해서는 vitamin E의 간독성으로 MDA값이 유의적으로 올라간 것으로 추정된다. 그러나 이것은 관련자료도 없고 앞으로 더욱 검토가 필요한 내용이라고 생각되었다. 반면 18개월 그룹의 스트레스 군에서도 MDA 수치가 C-18군, E-18군, S+E-18군보다 높게 나타나, 젊었을 때 받은 스트레스가 노년기의 MDA 함량 증가에 영향을 준다는 것을 알 수 있었다.

이는 젊었을 때 받은 일시적 스트레스가 간조직의 손상 후에 생성되는 간 섬유화 인자인 transforming growth factor- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ )의 발현을 증가시킨 결과로 보이며, 스트레스로 인한 간 손상은 TGF- $\beta_1$ 을 비롯한 여러 사이토카인들의 분비를 촉진시키고,  $\alpha_1$  (I) procollagen의 발현이 증가되어, paracrine effect로 간간상세포(hepatic stellate cell)에서의 발현증가가 MDA 수치를 증가시킨 결과로 판단된다.<sup>31,32)</sup>

스트레스를 가하면서 vitamin E를 동시 투여한 S+E군에서 MDA 저하는 vitamin E의 영향으로 보이며, 이는 급성 혹은 만성 간손상 및 간섬유화 억제에 vitamin E가 효과가 있다는 선행연구결과와 같다.<sup>33,34)</sup> 본 연구에서도 vitamin E가 TGF- $\beta_1$ 의 발현을 감소시켜 ROS의 작용을 억제하여 간섬유화를 막아준 결과로 MDA의 함량이 저하되었다고 판단된다. 또한 스트레스에 의한 DNA 변이를 vitamin E가 어느 정도 방어하여<sup>35)</sup> MDA 생성을 억제하는 효소들의 생산이 스트레스군보다 높아 MDA 생성이 감소하는 영향도 받았을 것으로 보이며, 스트레스에 의한 세포들의 DNA 변이와 간조직의 섬유화는 측정된 TG, HDL-cholesterol, AST, TAS, SOD 값에도 장·단기적으로 부정적 영향을 미쳤을 것으로 판단되었다.

이와 같이 5개월령 마우스를 8주간 하루 40분씩 스트레스를 가한 경우 혈청 TG, HDL, AST와 간의 TAS, SOD, MDA의 측정된 모든 값에 나쁜 영향을 미치며, 이들 마우스를 총 18개월 될 때까지 사육 후 혈청과 간을 분석한 결과 거의 개선되지 않고 그대로 혹은 대조군에 비해 HDL-cholesterol 농도가 7%, SOD 농도가 33% 더 악화되는 것으로 나타났고 MDA에서만 대조군에 비해 1.3% 덜 떨어지는 것으로 보였다. 이렇게 스트레스의 나쁜 영향들이 스트레스가 없는 기간에도 계속되는 것을 알 수 있었다. 이것을 사람의 경우로 환산하여 보면, 20

대에 일정 기간 받은 스트레스가 그 후 스트레스 없이 40년 이상을 살아 60대 이상이 되어도 그대로 나타날 수 있다는 것이며 이는 한때 어느 기간 동안 받은 스트레스가 평생 신체적 저하를 유발할 수 있다고 볼 수 있겠다.

그리고 스트레스에 vitamin E가 어느 정도 효과적이라는 것을 알 수 있어 적정량의 vitamin E의 섭취는 현대인들에게 중요하다고 생각되었다.

## 요 약

본 연구에서는 일정기간 스트레스를 받을 때 vitamin E 투여가 스트레스를 얼마나 장·단기적으로 방어할 수 있는지 알아 보았다. ICR 마우스를 사람의 나이 20대에 해당되는 5개월까지 사육한 후, 8주간의 스트레스를 가하고 사람의 나이 노년기에 해당되는 18개월 될 때까지 사육하여 스트레스로 인한 생체 내의 산화적 손상지표로 혈청과 간의 대사산물의 변화를 조사하였다. 그 결과, 스트레스는 장·단기적으로 모두 혈청의 TG, AST 함량을 증가시키고, HDL-cholesterol 함량을 저하시키는 것에 반해, 여기에 vitamin E의 투여는 스트레스를 받은 쥐에서 혈청 TG와 AST의 함량을 감소시키고, HDL-cholesterol의 함량을 증가시키는 효과를 보여주었다. 스트레스는 간조직의 TAS, SOD 함량 감소와 MDA 함량 증가를 야기시켰으며, 스트레스 받은 쥐에 vitamin E의 투여는 TAS, SOD의 함량을 증진시키고, MDA의 함량을 저하시키는데 긍정적인 영향을 주었다. 따라서 젊었을 때 한때 받은 스트레스는 노년기의 TG, HDL-cholesterol, AST, TAS, SOD 그리고 MDA의 수치 모두에 있어서 부정적인 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이러한 결과를 통해서 한때 어느 기간 받은 스트레스는 시간이 지난 노년기까지 혈청과 간조직에 부정적 영향을 주며 vitamin E는 이를 어느 정도 보호하는데 긍정적인 효과를 나타낸다는 것을 알 수 있었다.

**Key words:** 스트레스, 비타민 E, 혈청, 간조직

## 참고문헌

- Ghrousos, G. P. (2000) The role of stress and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the pathogenesis in the metabolic syndrome: Neuroendocrine and target tissue-related causes. *Int. J. Obesity*. **24**, S50-S55.
- Elliot, G. R. and Eisdorfer, C. (1982) Stress and human health. New York, Springer, **2**, 1-20.
- Thomson, C. B. (1995) Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science*. **267**, 1456-1462.
- Gutteridge, J. N. C. (1995) Lipid peroxidation and antioxidants as biomarker of tissue damages. *Clin. Chem.* **41**, 1819-1828.
- Chow, C. K. (1991) Vitamin E and oxidative stress. *Free Radical Bio. Med.* **11**, 215-232.
- Tiidus, P. M. and Houston, M. E. (1995) Vitamin E status and response to exercise training. *Sports Med.* **20**, 12-23.
- Kagan, V. E., Spirichev, V. B. and Serbinova, E. A. (1994) The significance of vitamin E and free radicals in physical exercise.

- In *Nutrition in exercise and sport*, Wolinsky, I. (2nd ed.) pp. 185-213, CRC Press, Boca Raton.
8. Avellini, L., Chiaradia, E. and Gaiti, A. (1999) Effect of exercise training, selenium and vitamin E on some free radical scavengers in horse. *Comp. Biochem. Phys. B.* **123**, 147-154.
  9. Livne, E., Laufer, D. and Blumenfeld, I. (1997) Comparison of *in vitro* response to growth hormone by chondrocytes from mandibular condyle cartilage of young and old mice. *Calcified. Tissue. Int.* **7**, 61-62.
  10. Park, S. Y. (2001) Study on the oxidative damage induced by stress and its recovery in mice. Department of Microbial Engineering. Dissertation of Ph. D. Konkuk Universtiy. Seoul.
  11. Kissebah, A. H. (1974) Stress hormones and lipid metabolism. *Proc. R. Soc. Med.* **67**, 665-667.
  12. Howard, N. H., Dieter, M. K., Poetro, A., Gabriele, B. B., Giuseppe, G., Juliana, H., Hazel, P. and Alex, S. (1994) Biochemical and cytotoxic characteristics of an *in vivo* circulating oxidized LDL. *J. Lipid Res.* **35**, 669-677.
  13. Collett, C., Pares-Herbute, N., Monnier, L. H. and Cartry, E. (1988) Platelet function in type I diabetes: Effects of supplementation with large doses of vitamin E. *Am. J. Clin. Nutr.* **47**, 256-261.
  14. Gittleman, B., Shatin, L., Bierenbaum, M. L., Fleisohman, A. I. and Hqyton, T. (1968) Effects of quantified stressful stimuli on blood lipids in man. *J. Nutr. Ment. Dis.* **147**, 196-201.
  15. Lehtonen, A. J. (1978) The effect of vigorous physical activity at work on serum lipids with a special reference to serum high-density lipoprotein cholesterol. *Acta. Physiol. Scand.* **104**, 117-121.
  16. Kruit, J. K., Groen, A. K., van Berkel, T. J. and Kuipers, F. (2006) Emerging roles of the intestine in control of cholesterol metabolism. *World. J. Gastroenterol.* **12**, 6429-6439.
  17. Lim, S. S., Kim, M. H. and Lee, J. H. (1997) Effect of *Artemisia princeps* var *orientalis* and *Circium japonicum* var *ussuriense* on liver function body lipid and bile acid of hyperlipidemic rat. *Korean J. Nutr. Soc.* **30**, 797-802.
  18. Woo, Y. S. (1992) Studies on the effects of slaughter stress on the blood picture and serum chemical values of pigs. Dissertation of Ph. D. Konkuk Universtiy. Seoul.
  19. Henry, J. B. (2007) Measurement of lipids and evaluation of lipid disorders. In *Clinical diagnosis and management by Laboratory Methods*, Levy, M. D. pp. 171-198, Elsevier Science Health Science div, Churchill.
  20. Rao, M. S., Paredy, K., Abecassis, M. and Hashimoto, T. (2001) Regeneration of liver with marked fatty change following partial hepatectomy in rats. *Digest. Dis. Sci.* **46**, 1821-1826.
  21. Cherubini, A., Zuliani, G. and Costantini, F. (2001) High vitamin E plasma levels and low low-density lipoprotein oxidation are associated with the absence of atherosclerosis in octogenarians. *J. Am. Geriatr. Soc.* **49**, 651-654.
  22. Gale, C. R., Ashurst, H. E., Powers, H. J. and Martyn, C. N. (2001) Antioxidant vitamin status and carotid atherosclerosis in the elderly. *Am. J. Clin. Nutr.* **74**, 402-408.
  23. Lovin, R., Cottle, W., Pyke, I., Davanagh, M. and Belcastro, A. N. (1987) Are inducers of free radical damage related to exercise intensity. *Eur. J. Appl. Physiol.* **6**, 313-316.
  24. Lawler, J. M., Powers, S. K., Dijk, H. V., Visser, T., Kordus, M. J. and Ji, L. L. (1994) Metabolic and antioxidant enzyme activities in the diaphragm: effects of acute exercise. *Res. Physiol. Neurobiol.* **96**, 139-149.
  25. Ji, L. L. (1993) Blood glutathione status during exercise; Effect of carbohydrate supplementation. *J. Appl. Physiol.* **74**, 788-792.
  26. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1989) In *Free radicals in biology and medicine*, (2nd ed.) Clarendon Press, Oxford.
  27. Yun Mei, K. R., Gawai, Zhongzhen, Nie., Vickmar. and Robert, H. Helfert. (1999) Age related reductions in the activities of antioxidant enzymes in the rat inferior colliculus. *Hearing. Res.* **135**, 169-180.
  28. Scarpa, M., Rigo, A., Maiorino, M., Ursini, F. and Gregolin, C. (1984) Formation of  $\alpha$ -tocopherol radical and recycling of  $\alpha$ -tocopherol by ascorbate during peroxidation of phosphatidylcholin liposomes. An electron paramagnetic resonance study. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **801**, 215-219.
  29. Okimoto, K., Hamazaki, K., Lwagaki, H., Orita, K. and Mori, A. (1995) Effect of picibanil on the scavenging effect of free radicals produced during liver regeneration in the rat. *Acta. Med. Okayama.* **49**, 75-79.
  30. Bedossa, P., Houghlum, K., Trautwein, C., Holstege, A. and Chojkier, M. (1994) Stimulation of collagen  $\alpha$  I(I) gene expression is associated with lipid peroxidation in hepatocellular injury: a Link to fibrosis. *Hepatology.* **19**, 1262-1271.
  31. Nakatsukasa, H., Evarts, R. P., Hsia, C. C. and Thorgeirsson, S. S. (1990) Transforming growth factor- $\beta_1$  and type I procollagen transcripts during regeneration and early fibrosis of rat liver. *Lab Invest.* **63**, 171-180.
  32. Armendariz-Borunda, J., Seyer, J. M., Kang, A. H. and Raghov, R. (1990) Regulation of TGF- $\beta$  gene expression in rat liver intoxicated with carbon tetrachloride. *FASEB J.* **4**, 215-221.
  33. Brenner, D. A., Veloz, L., Jaenisch, R. and Alcorn, J. M. (1993) Stimulation of the collagen  $\alpha$  I (I) endogenous gene and transgene in carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis. *Hepatology.* **17**, 287-292.
  34. Castilla, A., Prieto, J. and Fausto, N. (1991) Transforming growth factor  $\beta_1$  and  $\alpha$  in chronic liver disease. *N. Eng. J. Med.* **324**, 933-940.
  35. Traber, M. G. (2001) Does vitamin E decrease heart attack risk summary and implications with respect to dietary recommendations. *J. Nutr.* **131**, 395-397.