

Original Article

임신 중 만성스트레스가 생후 4주 幼鼠의 피부장벽에 미치는 영향

차재훈, 김윤범

경희대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실

The Effect of Stress During Pregnancy on the Skin Barrier of Mice Four Weeks After Birth

Jae-Hoon Cha, Yoon-Bum Kim

Department of Ophthalmology, Otolaryngology and Dermatology,
College of Oriental Medicine, Kyunghee University

Background and Objectives: The skin barrier protects skin against a harmful environment. Its function includes an antimicrobial barrier as well as a physical barrier. Stress is harmful to the skin barrier and there are many studies on this, but there are few about the effect of stress during pregnancy on the skin barrier of offspring. The aim of this study was to investigate the effect of stress during pregnancy on the skin barrier of offspring by examination with the naked eye, cortisol, weight, TEWL and histologic tests.

Materials and Methods: Male hairless mice ten weeks old were coupled with females for three days. After twelve days the females were divided into two groups. We stressed one group and not the other group. The offspring from the non-stressed (N group) and stressed (S group) grew up until four weeks. The S group was exposed to chronic mild stress using the chronic stress model protocol modified method of Wilner and Towell for a week. We made examinations with the naked eye, assessment of cortisol, weight, TEWL, and histologic test to contrast the S group with the N group. Statistical analysis was performed by using Mann-Whitney and Friedman test. Statistical significance was achieved if the probability was less than 5% ($p < 0.05$)

Results:

1. By making an examination with the naked eye, S group showed papules, creases and dryness on their skin, but N showed no change compared with normal skin.
2. There was no statistically significant difference between S group and N group in cortisol ($p > 0.05$).
3. There was no statistically significant difference between S group and N group in weight. N group had less weight than S group ($p < 0.05$).
4. There was no statistically significant difference between S group and N group in TEWL ($p > 0.05$).
5. There was no statistically significant difference between S group and N group in TEWL recovery ($p > 0.05$).
6. In TEWL and TEWL recovery, there was statistically significant difference by time between S group and N group ($p < 0.005$).
7. Histologically, S group showed a thicker epidermis and epidermal crest than N group.

Conclusions: We found that stress during pregnancy has negative effects on the skin barrier of offspring. Though there were no statistically significant differences between S group and N group in TEWL recovery, we found evidence that the recovery of skin barrier function is interrupted by stress during pregnancy by examination with both the naked eye and histology.

Key Words : TEWL recovery, skin barrier, stress during pregnancy, cortisol, chronic mild stress (CMD)

• 접수 : 2008년 8월 25일

• 수정 : 2008년 12월 23일

• 채택 : 2008년 12월 26일

• 교신저자 : 김윤범(Yoon-Bum Kim)

서울시 동대문구 회기동 경희대학교 부속한방병원 안이비인후피부과학교실

Tel : +82-2-958-9181, Fax : +82-2-958-9180, E-mail : kyb6838@hanafos.com

서론

스트레스는 현대생활에 있어 친숙한 개념으로서 자극제가 될과 동시에 걱정거리가 되기도 한다. 뇌에 반응을 일으키는 자극원(스트레서)과 함께 시작되어 몸에 생리적인 영향을 미친다¹⁾. 과도한 스트레스는 인체의 항상성을 깨뜨리는 역할을 하여 각종 피부질환²⁻⁴⁾이 발생하기 쉬운 여건을 조성시킬 수 있다.

피부장벽은 체액의 손실을 막고 유해한 환경으로부터 신체를 보호하는 가장 중요한 일차 방어선으로서 독성 물질이나 미생물, 기계적인 자극이나 자외선에 대한 피부의 장벽기능을 뜻한다⁵⁾. 그런데 질병 상태에서는 정상 피부와 비교하여 종종 이러한 피부 장벽 지질 합성에 중요한 효소들이 하나 또는 그 이상의 활성의 변화가 초래된다⁶⁾. 한 예로, 아토피성 피부염을 들 수 있다^{7,8)}. 이 외에도 건선^{9,10)} 및 여드름¹¹⁾에서도 피부장벽의 기능이 손상된 것이 관찰된다.

스트레스와 피부장벽의 관계에 대한 연구들이 보고되고 있는데, 스트레스가 건강한 여성의 피부장벽 기능의 손상을 촉진시킨다는 보고가 있었고¹²⁾, 군집 스트레스를 받은 쥐는 정상 쥐에 비해 체중이 적게 나가고 피부지질조성에 이상이 생기며, 피부장벽의 손상이 일어난 다는 연구¹³⁾, 스트레스를 많이 받고 있다고 자각하는 사람은 피부장벽 손상의 회복이 느리다는 연구¹⁴⁾도 있다. 최근에는 실험상에서 피부장벽을 손상시키기 위한 한 방법으로 스트레스를 주는 모델¹⁵⁾도 쓰이고 있다.

임신 중 스트레스와 관련된 연구로는 임신상태에서 주어진 스트레스에 의해 자녀의 발달정도의 차이를 비교한 연구¹⁶⁾ 및 산화스트레스와 출생아의 체중

사이의 연관성 연구¹⁷⁾, 임신 중 외부로부터 투여된 ACTH에 의하여 태아의 혈중 cortisol과 ACTH 또한 높아진다는 연구¹⁸⁾, 임신 중 주사자극을 통한 스트레스가 가해지면 태어나는 자녀의 nucleus accumben의 세포 수와 부피가 줄어들어 정신분열증과 비슷한 구조를 가지게 된다는 연구¹⁹⁾, 임신 중의 만성스트레스가 자녀의 성장률, 기억력, 불안 정도를 악화시킨다는 연구²⁰⁾등이 있다. 그렇지만 아직 임신 중 스트레스와 태어난 자손의 피부장벽간의 연구는 이루어지지 않았다.

따라서 구속, 조명, 절식, 절수, 강제유영, 소음 등을 일정한 스케줄에 따라 반복하여 주는 Chronic mild stress(CMS) 모델²¹⁾을 통해 무모생쥐에 스트레스를 유발한 후 혈청 cortisol을 측정하여 스트레스 유발정도를 측정하고, 피부의 상태를 육안확인 및 조직염색하여 관찰하고, tape stripping후 경피수분손실도(이하 TEWL, transepidermal water loss)와 피부장벽 회복률 등을 통해 임신 중 만성스트레스가 자손의 피부장벽에 미치는 영향에 대하여 살펴보고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험동물

주령 6주의 무모 생쥐를 (주)샘타코 BIO KOREA에서 분양받아 임신이 가능한 10주까지 기른 후, 수컷 두 마리와 암컷 열 마리를 5일간 합사시킨다. 육안관찰을 통해 12일 후에 열 마리 모두 임신한 것으로 가정하고, ♀ 무모 생쥐를 둘로 나눈 후한 군에

Table 1. Change of the number in each phase

Number	S Group		N Group	
	Male	Female	Male	Female
Birth	9	5	17	18
Corisol and Weight measured	9	5	10	5
TEWL measured	5	0	5	0

만 스트레스를 가한다. 스트레스를 주지 않은 군에서 태어난 幼鼠를 非스트레스 幼鼠군(이하 N group), 스트레스를 가한 군에서 태어난 幼鼠를 스트레스 幼鼠군(이하 S group)으로 나눈 뒤 주령 4주가 될 때까지 기른 후 사용한다. 스트레스를 가한 母 무모 생쥐 5마리 중 1마리는 임신을 하지 않은 것으로 밝혀졌으며, 1마리는 유산을 하였다. 그러나 스트레스

를 가하지 않은 母 무모 생쥐 5마리는 모두 출산을 하였다. 위의 방법대로 4주령까지 기르는 도중 스트레스를 가한 母 무모 생쥐 1마리가 幼鼠를 전부 먹었다. 그 후 4주령에 이르렀을 때 S group에는 수컷 9마리, 암컷 5마리가 있었으며, N group에는 수컷 17마리, 암컷 18마리가 있었다(Table 1).

Table 2. Chronic Mild Stress Protocol

Time	1st day	2nd day		3rd day	4th day		5th day	6th day	7th day	
01:00	LON(14) MC(14)	MC(14) Tilt(14)	MC(14) LON(14)	MC(14) Tilt(14)	LON(14) Tilt(14)	MC(14) Tilt(14)	LON(14) Tilt(14)	MC(14) Tilt(14)	TH(20) MC(20)	
02:00										
03:00										
04:00										
05:00										
06:00										
07:00										
08:00	SS(7)	FD (5)	LOF (10)	WD(3)	FD(6)	EB(3)	FD(5)	SS(6)	LOF (9)	WN (9)
09:00										
10:00										
11:00		WN (4)	TH(6)	SS (3)	WN (3)	TH(20) MC(20)	LON(14) MC(14)			
12:00										
13:00										
14:00										
15:00	EB(3)	MC(14) LON(14)	MC(14) LON(14)	MC(14) Tilt(14)	LON(14) Tilt(14)	MC(14) Tilt(14)	LON(14) MC(14)			
16:00										
17:00										
18:00	MC(14) Tilt(14)	MC(14) LON(14)	MC(14) LON(14)	MC(14) Tilt(14)	LON(14) Tilt(14)	MC(14) Tilt(14)	MC(14) Tilt(14)	TH(20) MC(20)	LON(14) MC(14)	
19:00										
20:00										
21:00										
22:00										
23:00										
24:00										

SS - Stroboscope Illumination
 EB - Empty water Bottle
 FA - Forced Arrest in the water
 FD - Food Deprivation
 WN - White Noise
 LOF - Light Off
 LON - Light On
 MC - Moistened Cage(100ml water in bedding)
 TH - Tripled Housing
 Tilt - Tilt Cage(45°)
 WD - Water Deprivation

2. 실험방법

1) 만성 스트레스(Chronic Mild Stress) 유발²⁴⁾

母 무모 생쥐에게 가해진 스트레스 자극에는 물 또는 먹이 박탈, 주야 주기의 역전, 과밀집, 격리, 깜빡이는 불빛, 소음, 사육상자 기울이기, 축축한 깔짚 등이 포함되었다. 이렇게 만든 만성 스트레스 프로토콜에 따라 다양한 상황에 母 무모 생쥐를 1주간 반복해서 노출시켰다(Table 2).

2) 피부장벽 손상 유발

Tape stripping(이하 TS)에는 셀로판테이프(Scotch tape ; 3M, China)을 사용하여背部 위 피부 2×3cm의 넓이에 테이프를 일정한 힘으로 붙이고 엄지손가락의 바닥부위로 세 번 견고하게 문지른 다음 엄지와 검지로 테이프의 한쪽 끝을 잡고 45도 각도를 유지하면서 머리 쪽으로 벗겨내는 방식으로 반복적으로 15회 TS를 실시하였다.

3) 피부상태의 육안 확인

S group과 N group에 속하는 무모 생쥐의 피부상태를 육안으로 관찰하였으며 디지털 카메라(Lumix ; Panasonic, Japan)를 이용하여 각각 촬영하였다.

4) 혈청 분리

무모 생쥐의 심장을 천자하여 혈액을 채혈한 후 응고시켰다. 원심분리하여 혈청을 분리 한 후 영하 20℃에 보관한다.

5) 혈청 cortisol 함량 측정

혈청 내 cortisol 함량은 cortisol(Immunotech, France)를 사용하여 Radio-immuno assay 법²²⁾(시약 : Aner-sharm, USA)으로 측정하였다.

6) 무모생쥐의 체중측정

각 무모생쥐의 무게는 체중계(Sartorius GmbH, Germany)를 사용하여 측정하였다.

7) 피부 경피수분손실도 측정

S group에서 무작위로 수컷 5마리, 非스트레스

幼鼠군에서 무작위로 수컷 5마리를 선택하여 매직 테이프(3M, USA)를 사용하여 15회 TS한 직후, 12시간 후, 48시간 후, 72시간 후, 84시간 후에 Vapometer (Delfin, Finland)를 사용하여 TEWL을 측정하였다.

8) 피부장벽 회복율 계산

급성 피부장벽 손상 유발 후 아래공식에 따라 피부장벽 회복율을 계산하였다.

Percent of skin recovery after TS

$$=100 \times \frac{\text{TEWL immediately after barrier disruption-TEWL at indicated time point}}{\text{TEWL immediately after barrier disruption-baseline TEWL}}$$

9) 피부 조직의 병리표본 제작

N group 중 TS를 하지 않은 무모 생쥐의背, S group 중 TS를 한 무모 생쥐의背, N group 중 TS를 한 무모 생쥐의背에서 피부조직을 얻고 10% neutral formalin solution에 넣고 24시간 동안 고정 한 후 paraffin에 포매하여 5µm 두께로 연속 절편을 만들었다. 그리고 이를 hematoxyline-eosin으로 염색하여 표본을 제작하였다.

10) 통계처리

통계분석은 SPSS(ver 12.0)을 이용하였다. 모든 측정값은 평균값±표준편차(Mean±S.D.)로 나타내었으며 data 분석은 Mann-Whitney 및 Friedman test를 시행하였다. 유의수준 P<0.05 이하인 것을 유의하다고 판단하였다.

결 과

1. 스트레스 幼鼠군과 非스트레스 幼鼠군 사이의 육안적 관찰 비교

S group에 속하는 무모 생쥐에서는 뚜렷하게 구진, 주름, 건조감이 관찰되었으나 N group에 속하는 무모 생쥐에서는 별 이상이 관찰되지 않았다(Fig. 1).

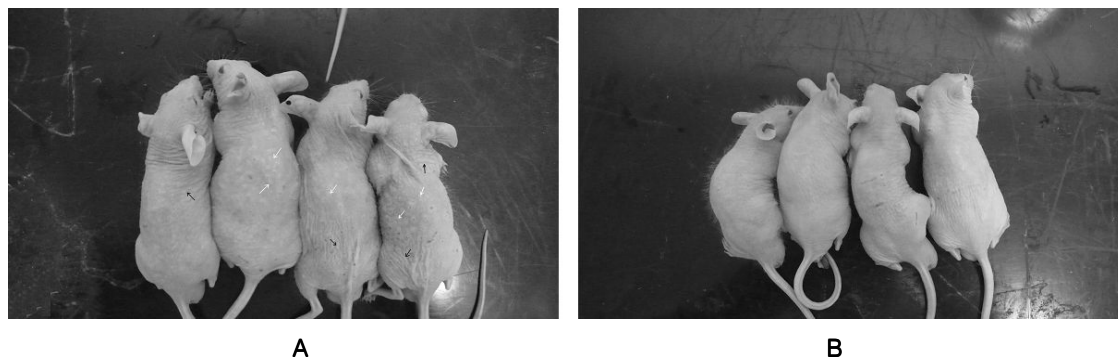


Fig. 1. Hairless mice pictured by digital camera. A is stressed group and B is non-stressed group. White arrow indicated papules and black arrow indicated crease

2. 혈청 cortisol 측정 결과

S group과 N group의 혈청 cortisol을 측정한 결과 S군 $3.046 \pm 0.812 \mu\text{g/dl}$, N군 $3.949 \pm 1.599 \mu\text{g/dl}$ 을 나타내었으며 두 군 간의 유의한 차이는 없었다

(Table 3).

또한 수컷군(M group)과 암컷군(F group)의 혈청 cortisol을 측정한 결과 M군 $2.947 \pm 0.774 \mu\text{g/dl}$, F군 $4.588 \pm 1.558 \mu\text{g/dl}$ 을 나타내었으며 두 군간의 유의한

Table 3. The Comparison of Cortisol between Stressed group and Non-stressed group

	S(n=14)	N(n=15)	P
cortisol	3.046 ± 0.812	3.949 ± 1.599	0.112

Using Mann-Whitney U test, $P < 0.05$

Table 4. The comparison of Cortisol between Male group and Female group

	M(n=19)	F(n=10)	P
cortisol	2.947 ± 0.774	4.588 ± 1.558	0.001**

Using Mann-Whitney U test, $P < 0.05$

** : Statistically significant as compared with the other group, $p < 0.005$

Table 5. The Comparison of Weight between Stressed group and Non-stressed group

	S(n=14)	N(n=15)	P
weight	20.091 ± 2.300	23.957 ± 2.900	0.002**

Using Mann-Whitney U test, $P < 0.05$

** : Statistically significant as compared with the other group, $p < 0.005$

Table 6. The Comparison of TEWL Recovery at 12hr, 48hrs, 72hrs, 84hrs interval

	Before	After	12hrs	48hrs	72hrs	84hrs
S(n=5)	11.54 ± 4.34	78.02 ± 14.69	50.82 ± 7.65	35.88 ± 7.47	30.06 ± 4.10	23.58 ± 6.61
N(n=5)	14.52 ± 4.30	68.42 ± 13.83	50.1 ± 5.24	34.12 ± 10.90	26.9 ± 8.04	17.74 ± 4.60
P	0.222	0.222	0.690	0.841	0.841	0.222

Using Mann-Whitney U test, $P < 0.05$

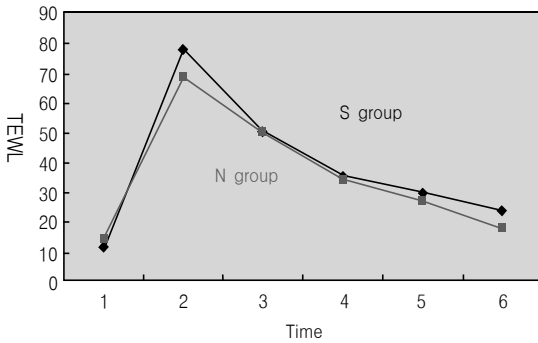


Fig. 2. The change of transepidermal water loss (TEWL) recovery by time
Using Friedman test, $P < 0.005$

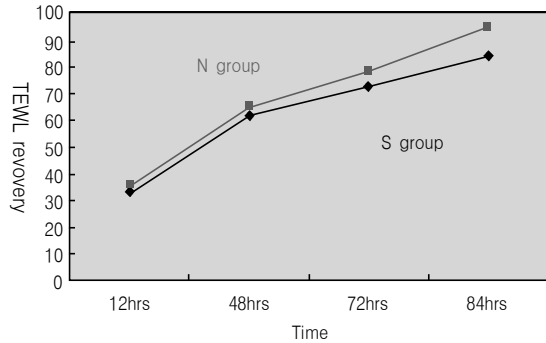


Fig. 4. The change of transepidermal water loss (TEWL) recovery by time
Using Friedman test, $P < 0.005$

차이가 있었다 (Table 4).

3. 체중 측정 결과

S group과 N group의 체중을 측정한 결과 S군 20.091±2.300g, N군 23.957±2.900g을 나타내었으며, 두 군 간에 유의한 차이를 나타내었다 (Table 5).

4. 경피수분 손실도 측정결과

S group과 N group의 경피수분 손실도는 아래와 같았으며 두 군 간에 유의한 차이를 보이지는 않았다 (Table 6).

다만 각 군 내에서 시간별로 TEWL은 p-value가 0.001보다 작아 유의한 차이를 보였다 (Fig. 2, Fig. 3).

5. 피부장벽 회복률 측정결과

S group과 N group의 피부장벽 회복률은 아래와 같았으며 두 군 간에 유의한 차이를 보이지는 않았다 (Table 7).

다만 각 군에서 시간별로 피부장벽 회복률의 변화는 p-value가 N group, S group 각각 0.002, 0.002로 유의한 차이를 보였다 (Fig. 4, Fig. 5).

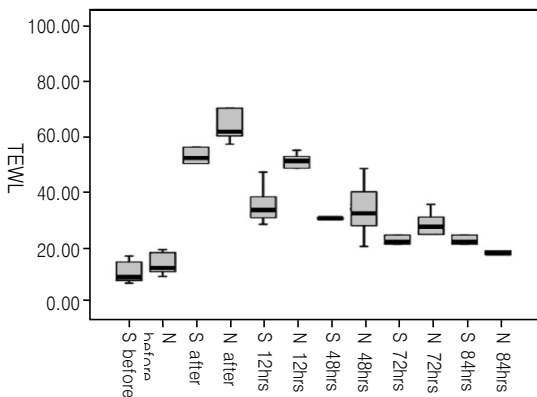


Fig. 3. The classification of TEWL by time and group

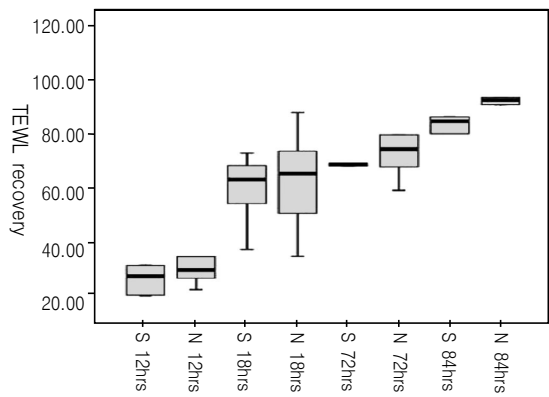


Fig. 5. The classification of transepidermal water loss (TEWL) recovery by time and group

Table 7. The Comparison of TEWL Recovery at 12hr, 48hrs, 72hrs, 84hrs interval

	12hrs	48hrs	72hrs	84hrs
S(n=5)	33.606±14.214	61.376±13.879	72.193±7.626	84.238±12.291
N(n=5)	34.944±7.747	64.647±20.257	78.067±14.944	95.093±8.533
P	0.690	0.841	0.841	0.222

Using Mann-Whitney U test, $P < 0.05$

6. 피부 조직의 병리표본 및 관찰

S group 중 TS를 한 그룹의 피부조직은 표피가 매우 두꺼워져 있으며 표피능이 두꺼웠다. 또한 각질층이 과다 증식한 것이 관찰되었다. 이에 비해 N group 중 TS를 한 그룹의 피부조직은 위의 그룹에 비해서는 표피가 얇으나 TS를 하지 않은 N group에 비해서는 두꺼웠다. 표피능도 마찬가지로 S group 중 TS를 한 그룹에 비해서는 얇으나 tape stripping을 하지 않은 非스트레스 N group에 비해서는 두꺼웠다. 각질층의 경우 N group에서는 표피층에 붙어 있으나 S group 중 TS를 하지 않은 그룹에서는 관찰되지 않으며 S group 중 TS를 한 그룹에서는 과다 증식한 것이 관찰되었다(Fig. 6, Fig. 7, Fig. 8).

고찰

피부장벽의 회복은 피부질환의 호전을 결정하는 매우 중요한 요인이다. 급성 피부장벽 손상 후에는 즉각적인 장벽 회복이 시작되는데, 회복은 이미 형성되어 있던 증판소체의 분비, cholesterol, fatty acids, sphingolipids 같은 표피 지질의 합성 증가, 새로운 증판소체의 형성과 분비, 이러한 결과로 인한 각질 세포간 지질의 회복, 그리고 효소에 의한 세포간 지질의 개형과 같은 일련의 과정을 거치게 된다²³⁾. 이러한 피부장벽의 정상적인 기능에 문제가 생길 때 아토피성 피부염^{7,8)}, 이 외에도 건선^{9,10)} 및 여드름¹¹⁾이 발생할 가능성이 높은 것은 이미 여러 연구를 통해 밝혀져 왔다.

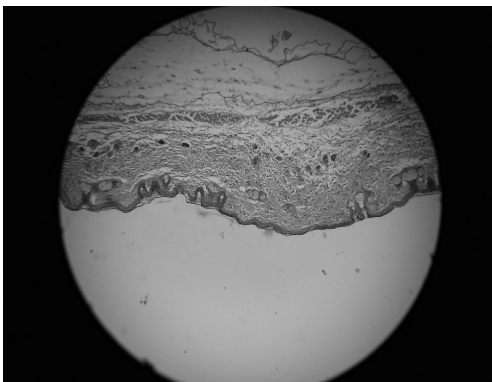


Fig. 6. Light photomicrograph of skin of non-tape-stripped group in N group(H&E stain ×100) It showed normal skin.

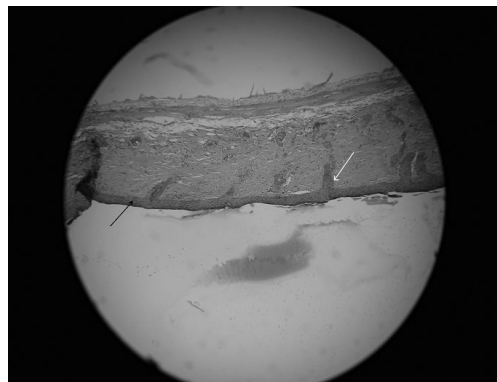


Fig. 7. Light photomicrograph of skin of tape-stripped group in N group(H&E stain ×100) It showed thicker epidermis and epidermal crest than non-stress group. And it didn't show stratum corneum. Black arrow indicated epidermis and white arrow indicated epidermal crest.

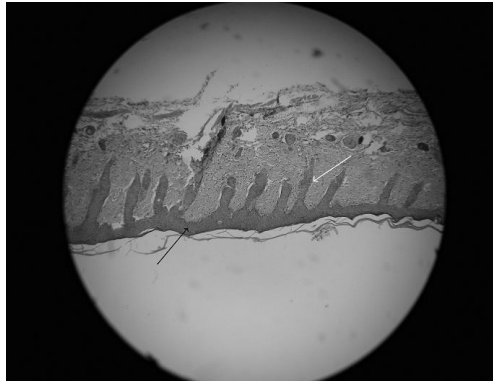


Fig. 8. Light photomicrograph of skin of tape-stripped group in S group(H&E stain ×100) It showed thicker epidermis and epidermal crest than stressed and not tape-stripped group. And it showed stratum corneum. Black arrow indicated epidermis and white arrow indicated epidermal crest.

고전 한의학 문헌에서 임신 중 스트레스가 피부 장벽에 미치는 영향을 언급한 문헌은 찾기 어려우나 여러 문헌에서 간접적으로 언급되었다. 『東醫寶鑑 神門 神統七情傷則爲病』²⁴⁾에서는 “心慌楊思慮則傷神...毛悴色夭...脾憂愁而不解則傷意...毛悴色夭...肝悲哀動中則傷魂...毛悴色夭...肺喜樂無極則傷魄...皮膚焦毛悴色夭...腎盛怒而不止則傷志...毛悴色夭” 이라고 하여 어떠한 일로 인해 특정 감정을 가지게 되면 神에 손상을 입게 되고 따라서 皮毛가 상한다고 하였다. 또한 『東醫寶鑑 神門 脫營失精證』²⁵⁾에서는 “雖不中邪, 病從內生, 身體日減, 氣虛無精, 病深無氣, 洒洒然時驚. 病深者 以其外耗於衛 內奪於榮.” 이라 하여 脫營失精證으로 인해 衛氣에 손상이 움을 이야기 하였다. 그리고 『東醫寶鑑 婦人門 妊娠將理法』²⁶⁾에서는 “心有大驚, 子必癩癘”이라 하여 임신 중에 크게 놀라는 일이 있으면 자손에게 반드시 癩癘이 발생한다고 하였으며, 고전 문헌에서는 胎中에 母體로부터 熱邪를 받아 생기는 것이 아토피성 피부염이라고 추측되어지는 奶癩, 胎癩, 胎瘡의 주요 원인²⁷⁾이다.

일상생활 속에서 받게 되는 다양한 자극 중에서 자신에게 불안, 긴장, 공포, 슬픔 등을 줄 때 이러한 원인을 스트레스(stressor)라고 하며, 이 때 분비되는 스트레스 호르몬들이 여러 기간에 영향을 미치게 되

는데 이러한 일련의 정신생리 현상을 스트레스(stress)라고 한다. 이러한 스트레스는 시상하부-뇌하수체-부신피질(hypothalamic-pituitary-adrenocortical, HPA) 축과 교감신경-부신계(sympathetic-adrenal medullary, SAM)을 활성화시켜 각각 glucocorticoid와 catecholamines을 증가시킨다. 그러나 스트레스가 장기간 지속될 경우 스트레스에 대한 반응이 적절하지 않게 되어서 소위 allostatic load가 일어나 고지혈증, 인슐린저항, 심혈관질환, 고혈압을 일으키게 된다²⁸⁾. 이와 같은 스트레스를 동물 실험에 적용하고자 만든 것이 Chronic mild stress(CMS) 모델²⁹⁾이다.

이러한 스트레스가 피부상태에 악영향을 미친다는 것은 이미 여러 연구를 통하여 밝혀진바 있다. 스트레스가 대다수 피부질환의 원인 중 하나인 피부 장벽기능의 손상을 촉진시키며, 군집 스트레스를 받은 쥐는 정상 쥐에 비해 피부지질조성에 이상이 생기고 따라서 피부장벽의 손상이 일어나며, 스트레스를 많이 받고 있다고 자각하는 사람은 피부장벽 손상의 회복이 느리다고 알려져 있다. 그렇기 때문에 피부장벽을 손상시키는 모델 중 하나로서 스트레스를 사용하기도 한다¹⁵⁾. 이렇게 스트레스가 피부장벽에 악영향을 미친다는 것은 여러 연구를 통하여 입증되어 있지만 임신상태에서 주어진 스트레스가 자손의 피부장벽에 어떠한 영향을 미치는 지는 아직

밝혀진 바가 없기에 본 논문에서 관련실험을 진행하였다.

스트레스 幼鼠군과 非스트레스 幼鼠군 사이의 피부상태 차이는 육안관찰로도 명확히 드러났다. 非스트레스 幼鼠군은 육안상 피부에 별 이상 증후가 없는 반면에 스트레스 幼鼠군은 구진, 주름, 건조감 등을 보였다. 구진은 경계가 뚜렷한 융기에 크기는 직경 1cm 미만이며 끝은 뾰족하거나 둥근 것이 일반적이지만, 일부에선 함몰되어 나타나기도 하는 원발진(primary lesion)이다. 이러한 원발진은 피부장벽이 손상되어 피부질환의 초기 병변으로서 나타난다¹⁾.

스트레스를 측정하기 위해서는 위에서 언급된 HPA 축과 SAM의 기전에 의해 방출되는 glucocorticoid와 catecholamines을 이용하게 되는데 만성 스트레스를 평가하기 위해 많이 측정되는 것이 cortisol이다. 스트레스가 지속되면 HPA축이 활성화되어 cortisol이 분비되는데, 지속적으로 분비되면 면역기능이 약화되고 질병을 일으키기 쉽게 된다. cortisol은 교감신경계처럼 신속하게 반응하지 않고 또한 반감기가 epinephrine, norepinephrine처럼 정맥천자로 인한 영향을 즉시 받지 않아서 혈액 채취의 방법으로서 검사하기에도 적절하다³⁰⁾. 하지만 본 연구에서는 S group과 N group 사이의 cortisol 사이에 유의한 차이가 없었으며 오히려 N group에서의 cortisol이 높았다. 이는 다소 의외의 결과인데 스트레스를 받은 생쥐의 cortisol이 높았던 기존의 연구결과³⁰⁾와 배치된다. 또한 임신 중 외부로부터 투여된 ACTH에 의하여 태아의 혈중 cortisol과 ACTH 또한 높아진다는 연구¹⁸⁾와도 상반된 결과를 보인 것이다. 이는 임신상태에서 스트레스 반응에 대해 저하된 ACTH분비는 바소프레신 분비의 감소에 기인한다는 연구^{31,32)}에서 그 원인을 찾을 수 있는데, 본 연구에서는 유산의 위험성 때문에 출산 4-5일전에 스트레스 자극을 중단시켰다. 임신 말기에 이르게 되면 ACTH의 분비는 점차 감소하는 경향을 보이므로 그 전의 스트레스 자극으로 인해 자손 cortisol의 상승분이 의미가 사라졌을 가능성이 있다. 이는 향후 연구를 통해 살펴보아야 할 것이다.

임신 도중의 스트레스는 자손의 체중을 감소시키는 것은 여러 연구^{16,20)}를 통하여 입증된 바 있는데 이는 본 연구에서도 마찬가지로 나타났다. 이는 nucleus accumbens의 세포 수와 부피가 줄어들었다는 연구¹⁹⁾에서와 같이 임신 중 스트레스가 자손의 특정 세포의 수와 부피의 증가를 억제하는 것으로 생각가능하다.

피부장벽 기능을 측정하는 방법으로 가장 많이 사용되고 있는 것은 경피수분 손실도의 측정이다. 피부를 통한 수분의 손실은 피부를 통한 수분의 증발과 땀으로 이루어지는데, 이중 피부에 의한 수분의 이동을 경피수분 손실이라하며 신체 내부에서 외부로 수분이 수동확산 되는 과정에서 생기는 현상이다³³⁾. TEWL은 피부장벽의 기능을 측정하는 주요한 방법의 하나로 알려져 있다. 일부 연구³⁴⁾에서 TEWL이 아토피성 피부염의 증상정도를 제일 잘 반영하는 척도라고 하였을 뿐만 아니라, 피부장벽 손상 후 회복정도를 측정하는 지표로서 여러 연구^{35,36)}에서 활용되었고, TEWL과 경피흡수도의 관계에 대한 연구³⁷⁾가 행해진 바 있다. 이러한 TEWL을 재는 방법은 여러 가지가 있는데 크게 open chamber system과 closed chamber system으로 나눌 수 있다. open chamber system은 주위의 기류에 의해 수치가 쉽게 영향 받는 불편한 점이 있기 때문에 closed chamber system이 고안되었는데 대표적인 기기로는 Vapometer가 있다. Vapometer는 Relative humidity를 통해 TEWL을 측정하게 된다³⁸⁾. Vapometer는 기존에 많이 사용되었던 기기인 Tewameter와 일치되는 결과를 보이면서도 휴대하기 편리한 기기로 알려져 있다³⁹⁾. 본 연구에서는 급성 피부장벽 손상을 일으키는 방법인 Tape stripping 후 시간이 지나면서 TEWL 및 피부장벽 회복률이 S group과 N group 모두에서 유의하게 상승하는 것은 확인할 수 있었으나 다만 각 시간 별로 S group과 N group 사이에 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

피부 조직의 병리 표본을 관찰한 결과 같이 TS를 진행하였더라도 S group이 N group에 비해서 표피 및 표피능이 두꺼웠는데 이는 스트레스에 의해 보다 염증반응이 심하다는 것을 의미한다. 즉, 스트레스

에 의해서 피부장벽의 정상적인 기능의 장애를 손상이 일어남을 보여주는 것이다. N group 중 TS를 한 그룹에서는 각질층이 관찰되지 않지만 S group 중 TS를 한 그룹에서는 과다 증식한 각질층이 관찰되는 것 역시 염증으로 인한 과다 증식으로 인한 것이다.

결론

무모 생쥐에서 임신 중 만성 스트레스가 자손의 피부장벽에 미치는 영향을 검증하기 위하여 피부상태를 육안으로 확인하였고, 자손의 혈중에 스트레스 호르몬 양을 알아보기 위하여 cortisol을 측정하였고, 체중, 경피수분 손실도 및 피부장벽 회복률을 조사 및 관찰하여 다음과 같은 결론을 도출하였다.

1. 육안상 관찰결과 S group은 임신 중 N group에 비해 피부에 구진, 주름, 건조감이 관찰되었다.
2. cortiol의 측정결과 S group과 N group 사이에 유의한 차이가 없었다($p < 0.05$).
3. 체중의 측정결과 S group이 N group에 비해 유의하게 체중이 적었다($p < 0.05$).
4. 경피수분 손실도의 측정결과 S group이 N group보다 높았으나 둘 사이에 유의한 차이가 없었다($p > 0.05$).
5. 피부장벽 회복률의 측정결과 S group이 N group보다 낮았으나 둘 사이에 유의한 차이가 없었다($p > 0.05$).
6. 경피수분 손실도 및 피부장벽 회복률의 측정결과 S group과 N group 모두에서 시간별로 유의한 차이가 있었다($p < 0.005$).
7. 피부 조직 표본결과 N group에 비해 S group의 피부 조직 상 염증소견(표피, 각질 및 표피 능이 두꺼움)소견이 관찰되었다.

이상의 실험 결과로 볼 때 임신 중 만성 스트레스가 생후 4주 幼鼠의 체중 및 피부상태에는 악영향을 미쳐 흥만, 구진, 저체중, 피부 조직 표본상 염증소견이 나타났으나 TEWL 및 피부장벽 회복률에는 유의한 차이를 미치지 않았다.

참고문헌

1. Dhabhar FS, Miller AH, Stein M, McEwen BS, Spencer RL. : Diurnal and acute stress-induced changes in distribution of peripheral blood leukocyte subpopulations. Brain Behav Immunol. 1994; 8(1):66-79.
2. Zouboulis CC, Seltmann H, Hiroi N, Chen W, Young M, Oeff M, Scherbaum WA, Orfanos CE, McCann SM, Bornstein SR. Corticotropin-releasing hormone: an autocrine hormone that promotes lipogenesis in human sebocytes. Proc Natl Acad Sci. 2002;99(10):7148-53.
3. Mulder MM, Sigurdsson V, van Zuuren EJ, Klaassen EJ, Faber JA, de Wit JB, van Vloten WA. Psychosocial impact of acne vulgaris. evaluation of the relation between a change in clinical acne severity and psychosocial state. Dermatology. 2001;203(2):124-30.
4. Chiu A, Chon SY, Kimball AB. The response of skin disease to stress: changes in the severity of acne vulgaris as affected by examination stress. Arch Dermatol. 2003;139(7):897-900.
5. Lee SH, An SK, Jeong SK. Skin barrier. Seoul : Ryumunkak. 2004;14,103-5.
6. Lee SH, Jeong SK, Ahn SK. An update of the defensive barrier function of skin. Yonsei Med J. 2006;47(3):293-306.
7. Imokawa G, Abe A, Jin K, Higari Y, Kawashima M, Hidano A. Decreased levels of ceramides in stratum corneum of atopic dermatitis : an etiological factor in atopic dermatitis. J Invest Dermatol. 1991;96:523-6.
8. Yamamoto A, Serizawa S, Ito M, Sato Y. Stratum corneum lipid abnormalities on atopic dermatitis. Arch Dermatol Res. 1991;283:219-23.
9. Motta S, Monti M, Sesana S, Melleli L, Ghidoni R, Caputo R. Abnormality in water barrier function on psoriasis: role of ceramide function. Arch Dermatol Res. 1994;130:452-6.

10. Ghadially R, Reed Jt, Elias PM. Stratum corneum structure and function corelates with phenotype in psoriasis. *J Invest Dermatol.* 1996;107:558-64.
11. Zouboulis CC. Acne and sebaceous gland function. *Clin Dermatol.* 2004;22(5):360-6.
12. Margaret Altemus, Babar Rao, Firdaus S. Dhabhar, Wanhong Ding, Richard D. Granstein. : Stress-Induced Changes in Skin Barrier Function in Healthy Women. *J Invest Dermatol.* 2001;117: 309-317.
13. Aioi A, Okuda M, Matsui M, Tonogaito H, Hamada K. Effect of high population density environment on skin barrier function in mice. *J Dermatol Sci.* 2001;25(3):189-97.
14. Muizzuddin N, Matsui MS, Marenus KD, Maes DH. Impact of stress of marital dissolution on skin barrier recovery: tape stripping and measurement of trans-epidermal water loss(TEWL). *Skin Res Technol.* 2003;9(1):34-8.
15. Fukada M, Kaidoh T, Ito A, Yano T, Hayashibara C, Watanabe T. "Green odor" inhalation reduces the skin-barrier disruption induced by chronic restraint stress in rats: physiological and histological examinations. *Chem Senses.* 2007;32(6): 633-9.
16. Sanchez DJ, Belles M, Albina ML, Gomez M, Linares V, Domingo JL. Exposure of pregnant rats to uranium and restraint stress: effects on postnatal development and behavior of the offspring. *Toxicology* 2006;228(2-3):323-32.
17. Kim YJ, Hong YC, Lee KH, Park HJ, Park EA, Moon HS, Ha EH. Oxidative stress in pregnant women and birth weight reduction, *Reprod Toxicol.* 2005;19(4):487-92.
18. Otten W, Kanitz E, Tuchscherer M, Schneider F, Brussow KP. Effects of adrenocorticotropin stimulation on cortisol dynamics of pregnant gilts and their fetuses: implications for prenatal stress studies, *Theriogenology.* 2004;61(9):1649-59.
19. McClure WO, Ishtoyan A, Lyon M. Very mild stress of pregnant rats reduces volume and cell number in nucleus accumbens of adult offspring: some parallels to schizophrenia, *Brain Res Dev.* 2004;149(1):21-8.
20. Lordi B, Patin V, Protais P, Mellier D, Caston J. Chronic stress in pregnant rats: effects on growth rate, anxiety and memory capabilities of the offspring, *Int J Psychophysiol.* 2000;37(2): 195-205.
21. Lim SM : The effects of Bohyoulansintang on an Animal Model of Depression induced by Chronic Mild Stress(CMS), Graduate school Kyung Hee University, 2001.
22. Yellow CT et al. In principles of competitive binding assays. Odell and Daughbay J. B. Lipincott. Co. Phila PI. 1971.
23. Kim DW. The recovery of skin barrier. *The Journal of Skin Barrier Reserch.* 2006;8(1):25 -8.
24. 許浚, 東醫寶鑑國譯委員會 譯. 대역 동의보감. Seoul : 법인문화사. 1999;182.
25. 許浚, 東醫寶鑑國譯委員會 譯. 대역 동의보감. Seoul : 법인문화사. 1999;201.
26. 許浚, 東醫寶鑑國譯委員會 譯. 대역 동의보감. Seoul : 법인문화사. 1999;1598.
27. Park HS, Kim YB. Five Cases of Atopic Dermatitis. *The Journal of Oriental Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology.* 2003; 16(2):255-260.
28. Kim JH, Shim IS. Stress and visceral obesity. *Biochemistry and Molecular Biology News .* 2007;27(2):8-14.
29. Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Msucat R. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress and its restoration by a tricyclic antidepressants, *Psychophrama* 1987;93:358-364.
30. Kim KS : The Effect of Chronic mild stress on Allergic Rhinitis, Graduate school Kyung Hee University, 2007.

31. da Costa AP, Ma X, Ingram CD, Lightman SL, Aguilera G. Hypothalamic and amygdaloid corticotropin-releasing hormone (CRH) and CRH receptor-1 mRNA expression in the stress-hyporesponsive late pregnant and early lactating rat, *Brain Res Mol.* 2001;91(1-2):119-30.
32. Ma S, Shipston MJ, Morilak D, Russell JA. Reduced hypothalamic vasopressin secretion underlies attenuated adrenocorticotropin stress responses in pregnant rats, *Endocrinology.* 2005; 146(3):1626-37.
33. Min PK, Kim DW, Jun JB, Chung Sang Lip. The Changes of Transepidermal Water Loss and the Recovery Rate of the Epidermal Permeability Barrier According to the Skin Surface Temperature and Temperature in a Diffusion Chamber. *Korean Journal of Dermatology.* 1996;34(6);875-85.
34. Kim DW, Park JY, Na GY, Lee SJ, Lee WJ. Correlation of clinical features and skin barrier function in adolescent and adult patients with atopic dermatitis. *Int J Dermatol.* 2006 Jun; 45 (6):698-701.
35. Jang YH, Kim HJ, Sung HC, Kim DW, Lee WJ, Na GY. Change of Skin Barrier Function According to Stratum Corneum Removal by Tape Stripping. *Korean Journal of Dermatology.* 2005; 43(7):919-25.
36. Shin KY, Park CW, Lee CH. Perturbation and Recovery of the Skin Barrier Function After Tape Stripping and Sodium Lauryl Sulfate Irritation. *Korean Journal of Dermatology.* 2000; 38(2):183-90.
37. Jackie Levin, Howard Maibach. The correlation between transepidermal water loss and percutaneous absorption: an overview. *Journal of Controlled Release.* 2005;103:291-299.
38. Jouni Nuutinen, Esko Alanen, Pekka Autio, Marjo-Riitta Lahtinen, Ilkka Harvima, Tapani Lahtinen. A closed unventilated chamber for the measurement of trans-epidermal water loss. *Skin research and technology.* 2003;9:85-9.
39. Kristien De Paepe, Evi Houben, Ralf Adam, Frank Wiesemann and Vera Rogiers. Validation of the VapoMeter, a closed unventilated chamber system to assess transepidermal water loss vs. the open chamber Tewameters. *Skin Research and Technology.* 2005;11:61-9.