

스트레스가 방광의 안정성에 미치는 영향

The Effect of Stress on Bladder Stability

Kyu Hyun Kim, Hana Yoon

From the Department of Urology, Ewha Womans University School of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: This study was designed to examine the effect of stress on the pathophysiology of bladder stability via the Rho-kinase and nitric oxide synthase activity, which are required for muscle contraction and relaxation within the bladder.

Materials and Methods: Animal testing was conducted in two separate sessions. In the first experiment, 36 female Sprague-Dawley rats weighing about 230-270g each were employed. 18 rats were placed in the control group and 18 rats were placed in the test group. The second testing was conducted using metabolic cages. Six rats were placed in the control group and six rats were placed in the test group under a stressful environment.

Results: The results showed that the frequency of urination was significantly increased with time in the test group ($p < 0.05$). However, the volume of voided urine decreased, thereby suggesting stress was a cause of overactive bladder. Analysis of bladder tissue for nitric oxide synthase (NOS) and RhoA-binding kinase (ROK α), important components of contraction and relaxation of bladder muscle, revealed that the levels of iNOS and ROK α were significantly increased with continued application of stress. This suggests that stress affects the levels of NOS and ROK α in an overactive bladder to influence contraction and relaxation of the bladder muscle.

Conclusions: An increase in the ROK α expression and changes of the NOS expressions in the rats with chronic stress pathophysiologically support that stress contributes to the clinical symptoms of overactive bladder. (Korean J Urol 2007;48:1131-1138)

Key Words: Stress, Urinary bladder, Overactive

대한비뇨기과학회지
제 48 권 제 11 호 2007

이화여자대학교 의학전문대학원
비뇨기과학교실

김규현 · 윤하나

접수일자 : 2007년 5월 31일
채택일자 : 2007년 9월 10일

교신저자: 윤하나
이화여자대학교 의학전문대학원
비뇨기과학교실
서울시 양천구 목동 911-1
☎ 158-050
TEL: 02-2650-5157
FAX: 02-2654-3682
E-mail: wowhana@ewha.ac.kr

이 연구는 한국학술진흥재단 선도연구자지원사업(KRF-2004-041-E00228)임.

서론

스트레스는 스트레스인자에 의해 생체의 항상성이 변화된 상태를 지칭한다.¹ 스트레스는 신경전달물질계, 내분비계, 중추신경계의 총체적인 변화를 유발하며 이런 변화들의 상호작용이 우울 및 불안증상을 발현시키고, 유지시키는 역할을 한다.² 현재까지 임상의학에서 주요 위험 인자로 스트레스를 지목하는 질병은 다양하게 제시되고 있으며 대표적으로 정신과 영역에서는 두통, 우울증, 수면장애, 공포증, 비만 등이 있고, 신체적인 질환에서는 과민성 대장 증후군, 신경성 위장병, 신경성 피부병, 고혈압, 심장병, 만성 통증 증후군, 만성 방광염, 과민성 방광과 같은 질환들이 있을

수 있다.^{3,4}

특히 임상적으로 비뇨기과 영역에서 흔히 접할 수 있는 하부요로증상들의 기복은 스트레스와 관련이 있다. 빈뇨, 방광뒤무직 (tenesmus), 요류약화, 요실금약화 등과 같은 증상들이 환자의 스트레스 상태에 따라 심해지거나 뚜렷해지는 현상은 임상에서 적지 않게 경험할 수 있다.^{5,7} 또한 스트레스는 간질성 방광염의 증상 기복에 중요한 악화요인으로 알려져 있고, 자율신경계의 조절부전도 간질성방광염의 병인으로 제시되고 있기도 하다.⁸

정상 배뇨는 방광과 요도의 근육을 통합하는 pontine micturition center (PMC)와 척수의 신경망에 의해 조절되어 소변의 저장과 배출의 기능을 수행한다.² 즉 방광의 기능은 심장, 혈관, 내장 같이 불수의적인 자율신경계의 지배뿐만

아니라 수의적인 조절도 가능하다. 이미 많은 연구에서 빈뇨, 절박뇨, 절박성요실금의 배뇨증상이 있는 환자는 신체화장애, 히스테리, 불안, 우울 등의 증상을 호소하는 경우가 많았다.⁹⁻¹¹ 이러한 하부요로증상과 연관되어 나타나는 삶의 질 저하는 당뇨나 고혈압으로 인한 삶의 질 저하보다 심각하다고 보고되고 있다.¹²

본 연구에서는 하부요로증상의 발현 및 악화가 스트레스와 밀접한 관련이 있다는 점에 기초하여 스트레스가 방광의 안정성에 어떤 형태로 변화를 줄 수 있는지를 알아보고자 하였다. 이를 위하여 주어진 스트레스 환경에서의 배뇨양상 관찰을 비롯하여, 근육의 수축과 이완의 중요한 매개체로 알려져 있는 RhoA-binding kinase (ROK α)와 nitric oxide synthase (NOS) activity의 방광 조직 내 변화를 관찰함으로써 비스트레스 상태에 비해 지속적인 스트레스가 방광의 안정성에 미치는 영향에 대해 비교 분석하여 보았다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 스트레스 조건

실험동물은 230-270g (6주)의 Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐로 2주간의 실험실 적응기간 동안 specific pathogen free (SPF) 상태에서 물과 먹이를 자유롭게 먹이며 사육하였다. 그 후 암컷 흰쥐 48마리 중 12마리는 각각 6마리씩 나누어 metabolic cage를 이용, 스트레스 환경과 정상적인 환경에서 2일부터 5일 간격으로 27일까지 하루 3시간씩 소변의 빈도와 양을 측정하였다 (Table 1). 실험군에 주어진 스트레스는 우리에 들어간 흰쥐의 밀도, 물과 사료의 제한, 그리고 주위 온도의 변화로 구성되었다. 스트레스의 조건은 Gatenbeck 등¹³이 제시한 방법에 따라 주어졌다. 공간 제한을 이용한 스트레스 조건을 부여하기 위하여 특수한 우리 (200x200x100mm)를 제작하였다. 스트레스가 없는 상태는 260x420x180mm의 우리 안에 4마리의 대상 동물을 넣었으며, 자유로이 물과 사료를 섭취하도록 하였다. 공간 제한 스트레스를 주는 경우에는 특수 제작 우리에 8마리의 흰쥐를 넣었다. 또한, 주어진 스트레스 일정표에 따라 물과 사료의 제한, 4°C 환경에 노출시킴 등을 각각 반복함으로써 일정 기간 동안 일정한 스트레스가 주어지도록 하였다. 실험군은 10일마다 반복되는 일정에 맞추어 스트레스를 받았다. 또한 각 암컷 흰쥐 6마리씩을 6군으로 나누었는데, 이들은 시간 경과에 따른 개체 상태 및 수의 변화를 고려하고, 각 군별로 일정한 스트레스 조건을 부여하기 위하여 각각 스트레스의 환경 10일군, 20일군, 30일군과 각 군마다의 대조군을 두어 일정한 조건하에서 사육하였다. 각각의 그룹은 정해진 시기에 도살하여 즉시 적출된 조직을 생리염양액 (physiologi-

cal salt solution; PSS)에 담근 후, 주변 결체 조직을 제거하고 ROK α , nNOS, iNOS 단백질 발현과, 면역조직화학적 검사 그리고 RNA 분리에 사용하였다.

2. 면역조직화학적 분석

ROK α , iNOS, nNOS의 발현 밀도를 관찰하기 위하여 -70°C에 보관한 방광조직 절편을 10%, 20%, 30% sucrose-용액에 순차적으로 침전시켜 조직을 고정시킨 후, 전기냉동박절기로 10 μ m 두께의 조직절편을 만들었다. 일차 항체로 neuronal NOS에 대한 특이항체 (nNOS; BD Transduction laboratories, USA)와 inducible NOS에 대한 특이항체 (iNOS; BD Transduction laboratories, USA)를 1:200으로 희석하여 사용하였으며 ROK α 에 대한 특이항체 (ROK α ; BD Transduction laboratories, USA)를 1:250으로 희석하여 사용하였다. 각 항체들은 diaminobenzidine (DAB)을 기질색소원으로 사용하여 avidin-biotin peroxidase technique (HRP; DakoCytomation, USA)을 이용하여 검출하였고, 대조 염색으로는 hematoxylin과 eosin염색을 사용하였다. 면역조직화학적 분석은 Image analysis software (Soft Imaging System GmbH, USA)를 사용하였으며, 비율과 면적분포 측정 시 염색 상태를 고려하여 각각 동일한 색조 (hue) 값을 적용시켜 백분율로 나타냈다.

3. 단백질 추출 및 Western blot

각 단백질의 발현 양상을 확인하기 위하여 각 그룹의 방광 조직을 4°C에서 0.1M PBS (potassium phosphate sodium,

Table 1. Stimuli used for induction of stress in rats by limiting the cage size and decreasing the ambient temperature and accessibility to food and water

Day number	Environment		
	Cage size*	Food and water access	Room temperature (°C)
1	Normal	Restricted	20
2	Normal	Free	4
3	Small	Free	20
4	Normal	Free	20
5	Normal	Restricted	20
6	Normal	Free	4
7	Small	Restricted	20
8	Normal	Free	20
9	Normal	Restricted	20
10	Normal	Free	4

*Normal: 4 rats in one cage, 260x420x180mm, Small: 8 rats in one cage, 200x200x100mm

pH 7.4)로 균질화 시키고, lysis buffer (5mmol/l-glycerophosphate, 2mmol/l MgCl₂, 1mmol/l EGTA, 0.5% Triton x-100, 0.5% NP-40, 1mmol/l DTT, 100ml protease inhibitor cocktail)로 용해시켰다. 단백질 농도는 Bio-Rad protein assay kit (Bio-Rad, USA)을 이용하여 측정하였다. SDS-polyacramide gel (9% separating gel, 5% stacking gel)에 각 lane당 25 µg의 단백질을 loading하여 전기영동을 시행하였다. 분리된 단백질은 semi-dry transfer unit (Hoefer, USA)을 이용하여 nitro-cellulose membrane에 transfer하였고, blocking solution (5% skim milk/TBST)으로 4°C에서 overnight 반응시켜 내인성 인자들을 차단하였다. 일차항체 (nNOS antibody, iNOS antibody, ROK α antibody)를 사용하여 2시간 반응시켰고, TBST (20mm Tris HCl (pH 7.6), 150mM NaCl, 0.05% (v/v) Tween 20)로 15분간 3회 세척한 후 이차항체 horse radish peroxidase conjugated goat anti-rabbit IgG (Upstate, USA, 1:2,000배 희석)와 1시간 반응시켰다. Chemiluminescence reagent (ECL kit, Amersham, USA)로 발색 반응한 후 Hyperfilm에 노출하여 현상하였다. Protein standard molecular marker는 precision protein standards (Bio-Rad, USA)를 이용하였으며 각 단백질의 밀도 측정은 Image analysis program (Bio-Rad, USA)을 사용하였다. 각 단백질의 발현은 nNOS는 155KDa, iNOS는 130KDa, 그리고 ROK α 는 180KDa에서 관찰하였다.

4. Reverse transcript-polymerase chain reaction (RT-PCR) 및 gel-electrophoresis

방광 조직을 RNA STAT-60 (Tel-Test, USA) 1ml를 사용하여 용액화 시킨 후 0.2ml의 chloroform을 넣고 잘 섞어준 다음 15분간 4°C에서 반응시키고, 원심분리하여 생긴 상층액에 동량의 isopropanol을 첨가하여 섞어준 후 4°C에서 1시간 보관 후 15,000xg에서 원심분리하였다. 그리고 상층액을 제거 후 75% 알코올을 첨가 7,500xg에서 7분 원심 후 상층액을 제거한 후 남은 침전물에 RNase free water를 첨가하여 녹인 후 원액을 100배 희석하여 260nm 파장에서 정량하였다. cDNA의 합성은 First Strand cDNA Synthesis Kit (MBI Fermentas, USA)를 사용하였다. PCR은 Bioneer사의 Taq DNA polymerase를 사용하였다.

중합효소연쇄반응에 사용된 각각의 primer 서열은 Table 2와 같다. 각각의 중합효소연쇄반응 산물의 크기는 ROK α 는 470bp, β -actin은 397bp이다.

중합효소연쇄반응 반응액의 조성은 다음과 같다. 10xreaction buffer 2 µl, 10mm dmix 1 µl, Taq DNA polymerase (0.5unit/ µl) 0.5 µl, β -actin sense primer (10pmoles) 1 µl, β -actin antisense primer (10pmoles) 1 µl, amplification sense primer (10pmoles) 1 µl, amplification antisense primer

Table 2. Detail of the primers used for amplification of ROK α and β -actin by RT-PCR

Gene	Primer	Sequence (5'-3')	Product sizes (bp)
ROK α	Sense	5'-GTG ATG GTT ACT ATG GGC GAG AAT-3'	470
	Antisense	5'-GTT AAG AAG GCA CAG ATG AGA T-3'	
β -actin	Sense	5'-GTC GGT GTC AAC GGA TTT G-3'	397
	Antisense	5'-ACA AAC ATG GGG GCA TCA G-3'	

ROK α : rhoA-binding kinase, RT-PCR: reverse transcript-polymerase chain reaction

(10pmoles) 1 µl, cDNA (from the first strand reaction) 2 µl를 넣고 멸균증류수로 최종부피가 20 µl가 되도록 하였다.

위의 반응액을 PCR (PERKINELMER Gene Amp PCR System 9,600, Germany)을 이용하여 95°C에서 5분간 반응시키고, 94°C에서 1분, 53°C에서 1분, 72°C에서 1분씩 35cycle을 수행한 후 72°C에서 5분간 반응시키고 1.7% agarose에 전기영동을 하여 자외선하에서 사진을 찍은 후 Image analysis program (analySIS, Soft Imaging System GmbH, USA)을 사용하여 밀도를 측정하였다.

5. 통계처리

얻어진 결과는 각각의 관찰 방법별로 구분하여 Mann-Whitney test를 사용하여 각각의 그룹 간 차이를 통계적으로 비교 분석하고, p값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 배뇨 양상의 변화

각 군에서 소변의 빈도와 양을 관찰한 결과 실험군이 대조군에 비해 빈뇨가 유의하게 증가된 것으로 나타났다 (Fig. 1A). 그러나 매회 배뇨량은 감소하였다 (Fig. 1B). 실험군과 대조군의 3시간 동안의 평균 배뇨횟수는 각각 4.67±1.46회와 3.50±0.88회였다 (p<0.05). 한편, 실험군과 대조군의 평균 배뇨량은 264.37±114.13 µl와 323.60±154.49 µl였다 (p<0.05).

2. ROK α , iNOS, nNOS에 대한 면역조직화학염색

정상환경 조건에서 사육된 암컷 흰쥐의 방광조직과 스트레스 환경조건에서 사육된 방광조직의 면역염색을 통한 ROK α , iNOS, nNOS의 발현을 면역조직화학염색으로 관찰

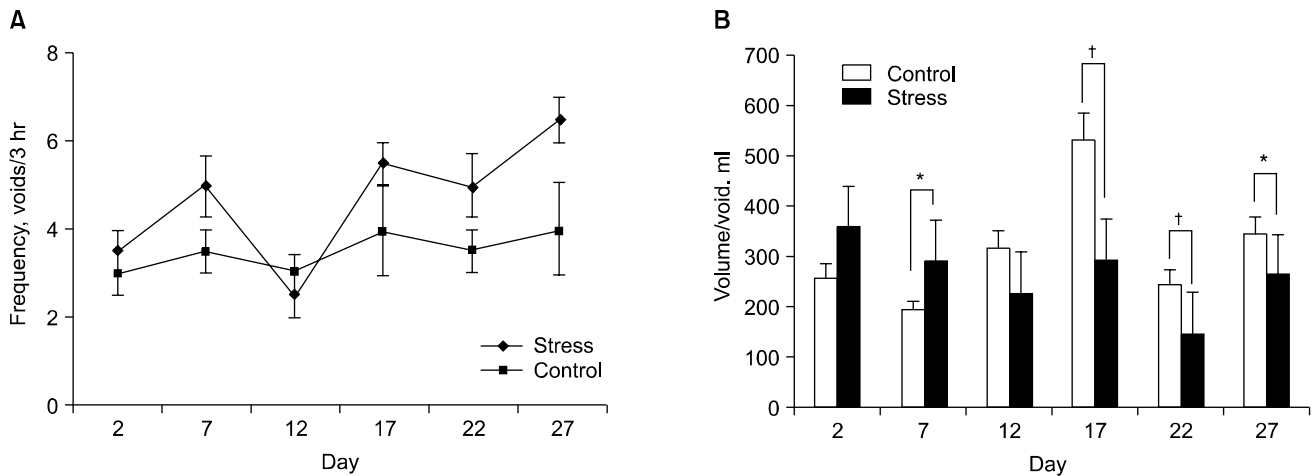


Fig. 1. Effect of stress on the urinary bladder function test parameters. (A) Voids frequency: This figure shows the total frequency of voiding within 3 hours, (B) Voids volume: These graphs presented volume (μ l)/void in the stress and control groups with prolonged application of the stress (*: $p < 0.05$, †: $p < 0.01$).

Table 3. Effect of stress on the percentage of the DAB positive area in the bladder tissue following immunohistochemical staining for nNOS, iNOS and ROK α

Group	Days	nNOS (%)	iNOS (%)	ROK α (%)
Control	10	7.6 \pm 4.9	2.3 \pm 1.1	4.0 \pm 1.6
Control	20	8.3 \pm 3.8	4.4 \pm 1.8	5.7 \pm 0.9
Control	30	10.6 \pm 3.5	8.5 \pm 6.0	9.8 \pm 3.1
Stress	10	7.2 \pm 4.2	7.2 \pm 4.0 [†]	7.8 \pm 3.7*
Stress	20	12.2 \pm 3.5	10.4 \pm 3.3*	8.9 \pm 2.3*
Stress	30	12.7 \pm 2.5	10.7 \pm 3.3*	18.6 \pm 2.9 [†]

Each value represents the mean \pm standard deviation of DAB % (* $p < 0.05$, † $p < 0.01$) DAB: diaminobenzidine, nNOS: neuronal nitric oxide synthase, iNOS: inducible nitric oxide synthase, ROK α : rhoA-binding kinase

한 결과 10일, 20일, 30일 후 nNOS의 발현은 대조군과 실험군 간의 유의한 차이가 없었다 ($p > 0.05$). 그리고 iNOS의 발현은 실험군에서 유의하게 증가되어 있었는데, 대조군의 10일, 20일, 30일 후 관찰된 염색 범위는 2.3 \pm 1.1, 4.4 \pm 1.8, 8.5 \pm 6.0%, 실험군은 7.2 \pm 4.0, 10.4 \pm 3.3, 10.7 \pm 3.3%였다 ($p < 0.05$). ROK α 역시 실험군에서 유의한 증가를 보였으며, 대조군에서 10일, 20일, 30일 후 관찰된 염색 범위는 4.0 \pm 1.6, 5.7 \pm 0.9, 9.8 \pm 3.1%, 실험군은 7.8 \pm 3.7, 8.9 \pm 2.3, 18.6 \pm 2.9%였다 ($p < 0.05$) (Table 3) (Fig. 2).

3. Western blot analysis를 이용한 ROK α , iNOS, nNOS 발현의 관찰

Western blot analysis를 이용한 ROK α , iNOS, nNOS 분석

에서 nNOS의 발현은 10일군과 30일군에서는 대조군과 실험군 사이에 유의한 차이가 없었으나, 20일군에서는 실험군에서 대조군에 비해 단백질 발현이 유의하게 높은 것을 확인할 수 있었다 ($p < 0.05$). iNOS와 ROK α 의 발현 역시 20일군에서는 실험군에서 유의하게 발현이 높았으나, 10일군과 30일군에서는 유의한 차이가 관찰되지 않았다 (Fig. 3).

4. RT-PCR 및 gel-electrophoresis

RT-PCR analysis에서, 대조군과 실험군의 ROK α 의 mRNA 발현율을 비교하였다. ROK α 의 mRNA 발현율은 10일, 30일군에서는 유의한 차이가 없었으나 20일군에서는 실험군에서 유의하게 높은 것으로 나타났다 ($p < 0.05$) (Fig. 4).

고 찰

빈뇨, 절박뇨, 잔뇨감 등의 방광자극 증상은 육체적, 정신적 피로, 스트레스와 같은 상황과 연관되어 발생하거나 악화되는 경우가 빈번하다. 이러한 이유는 스트레스로 인한 자율신경계의 교란과 그에 따른 호르몬의 변화로 인하여 방광조직이 형태학적 생화학적, 생리학적인 변화가 일어나기 때문이다.

근래에 스트레스, 불안 및 우울증의 병인이 점차 규명되면서 배뇨장애와의 강한 상관관계에 공통된 신경 전달물질의 변화가 매개되었을 가능성이 제시되어 관심을 끌고 있다.² 저자들의 스트레스와 관련된 이전 연구에 의하면, 스트레스는 암컷 백서에서 혈중 여성호르몬의 감소를 야기했다.¹⁴ 이는 norepinephrine이 증가되어 일어나는 일련의 반응

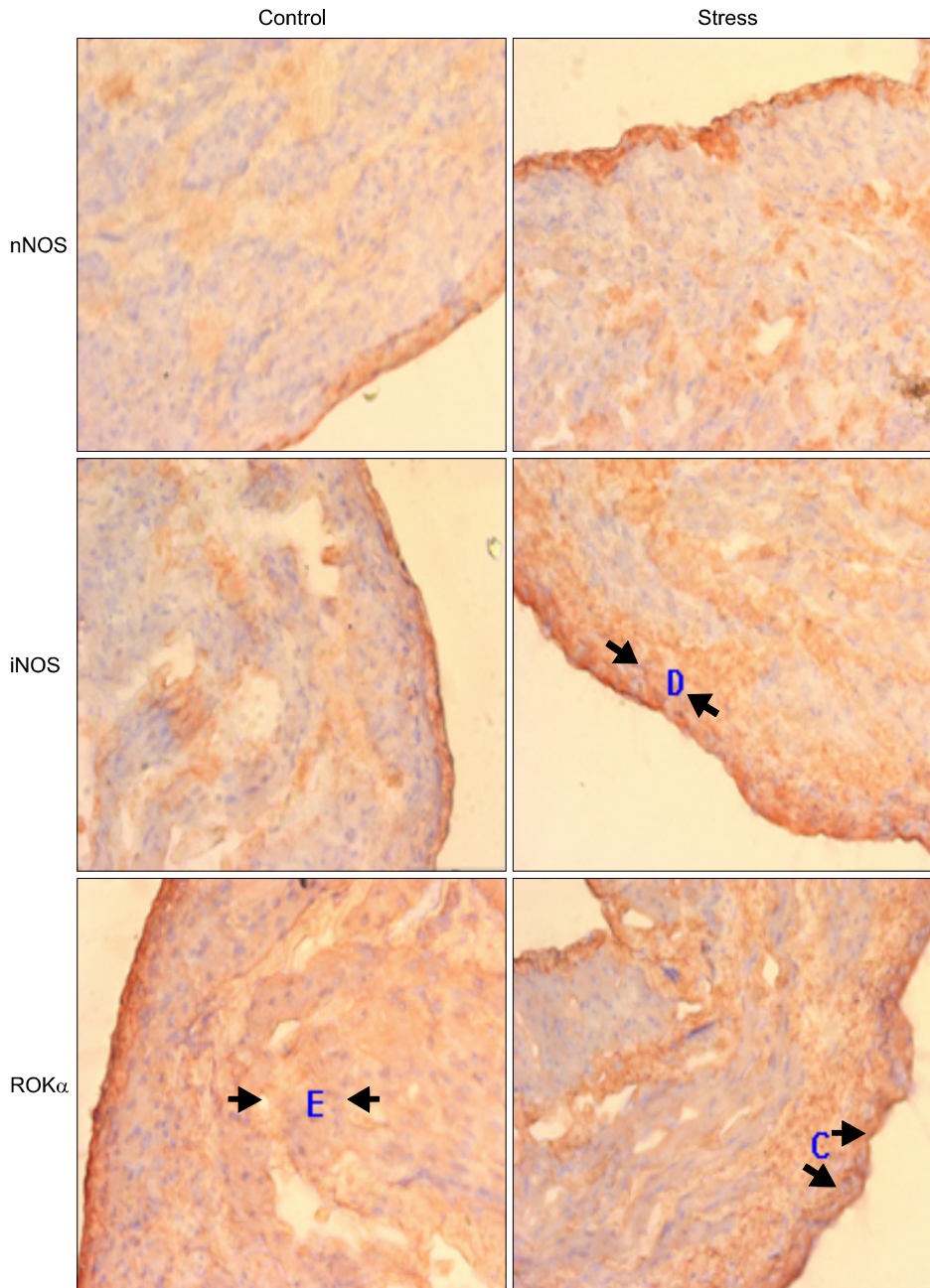


Fig. 2. Pattern of the DAB positive area in bladder tissue after immunohistochemical staining for nNOS, iNOS and ROK α at 20 days. Magnification 200x (C: urothelium, D: submucosa, E: muscularis mucosa) DAB: diaminobenzidine, nNOS: neuronal nitric oxide synthase, iNOS: inducible nitric oxide synthase, ROK α : rhoA-binding kinase.

의 결과로 여겨지며 이에 따른 보상적 결과로 남성호르몬과 dopamine이 증가되는 것으로 추정된다. 또한 만성적인 스트레스는 dopamine과 catecholamine의 신경 전달 체계의 이상을 야기한다. 여성호르몬이 부족할수록 방광벽의 glycosaminoglycan 성분이 감소하여 방광의 탄성이 줄어들고 감염에 대한 저항력이 약해진다.¹⁵

또한 스트레스로 인한 자율신경계 교란은 골반신경의 정상적인 신경분포에 문제가 생기게 하여 방광조직의 섬유화를 일으킨다.¹⁶ 이러한 방광조직의 섬유화는 배뇨근의 변화,

세포의 간질 변화에 의해 수축력의 변화 및 불안정한 방광 등의 변화가 발생하게 한다.¹⁷

평활근의 수축은 myosin light chain (MLC)의 인산화의 정도에 따라 조절되는데, MLC의 인산화 정도는 세포질 내 칼슘이온 농도에 따라 의존적으로 평활근을 수축시키는 myosin light chain kinase와 MLC를 탈인산화시키는 myosin light chain phosphatase (MLCP)의 균형에 의해 조절된다.¹⁸ RhoA는 Rho-kinase를 활성화시키고 Rho-kinase는 이 인산화 과정에 관여하는 효소로 MLCP의 myosin 결합부위를 인산

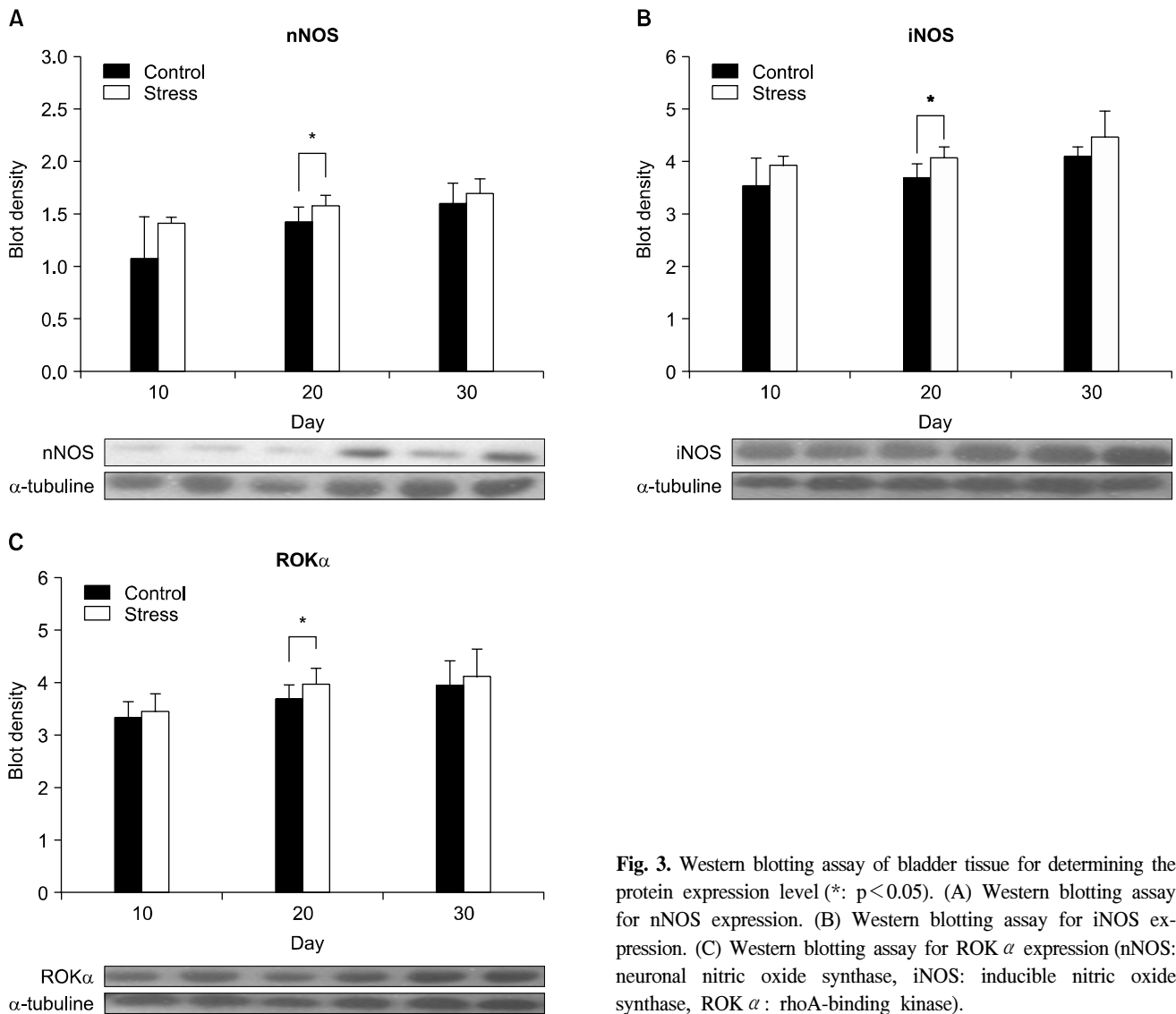


Fig. 3. Western blotting assay of bladder tissue for determining the protein expression level (*: $p < 0.05$). (A) Western blotting assay for nNOS expression. (B) Western blotting assay for iNOS expression. (C) Western blotting assay for ROK α expression (nNOS: neuronal nitric oxide synthase, iNOS: inducible nitric oxide synthase, ROK α : rhoA-binding kinase).

화시켜 평활근 수축을 유발한다.¹⁹

Whibberley 등²⁰은 Rho-kinase가 방광근에 존재하며 방광근의 수축에 관여한다는 것을 보고한 바 있으며, Rajasekaran 등^{21,22}은 potassium chloride를 rat의 방광내 주입 후 Rho-kinase 억제제를 사용하여 방광의 과민성이 감소함을 보였으며, 또한 자가발생 고혈압을 가진 백서 (spontaneously hypertensive rat)에서 rho-kinase 억제제 투여 후 방광 과민성의 감소가 있음을 보고한 바 있다.

본 실험의 동물실험 모델은 Sprague-Dawley rat (SD rat)을 이용하였는데, SD rat의 방광은 토끼에 비해 Ca-ATPase의 활성이 5배 정도 높아 에너지 소모량이 많아 스트레스를 통한 신경의 이상 발생 시 방광의 과활동성을 쉽게 관찰하리라고 생각하였다.²³ 또한 사람 방광의 주된 수축은 콜린성이며 퓨린성 수축의 비율은 낮다.²⁴ 이와 같은 이유로 인간

과 유사한 방광 수축 기전을 가진 SD rat을 동물 실험 모델로 사용했다.

실험군에서 사용된 스트레스 인자는 rat의 밀도, 물과 음식의 제한, 그리고 주위 온도의 변화이다. 이전의 연구에서 이러한 인자들이 rat의 스트레스를 유발하는 데 사용되어 왔으며, 이러한 스트레스 인자들은 방광 기능의 변화와 관련이 있다고 알려져 있다.²⁵⁻²⁷ 따라서 본 연구에서는 스트레스가 rat의 배뇨양상 및 방광 조직 내의 ROK α , iNOS, nNOS의 변화를 관찰하기 위하여 위의 인자들을 사용하였다.

본 실험의 결과 스트레스 환경에 지속적으로 노출되어 사육된 성숙 암컷 흰쥐는 스트레스 환경에 지속될수록 소변의 빈도는 증가하는데 반해 실제 1회의 소변량은 감소하는 것으로 보아 스트레스가 암컷 흰쥐에게 과민성방광 양상의 하부요로증상을 유발할 수 있음을 알 수 있었다.

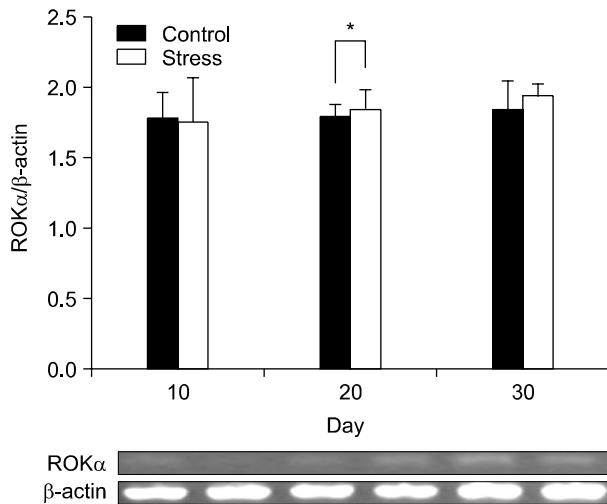


Fig. 4. RT-PCR analysis of bladder tissue for determining the expression level of the mRNA of ROK α transcript (*: $p < 0.05$) RT-PCR: reverse transcript-polymerase chain reaction, ROK α : rhoA-binding kinase.

면역조직화학검사에서 iNOS, ROK α 는 실험군에서 대조군에 비해 증가되어있으나 nNOS는 증가되어 있기는 하지만 통계적 유의성을 갖지는 못하였다. 또한 Western blot과 RT-PCR 방법을 통하여 확인한 ROK α , iNOS, nNOS의 발현은 실험시작 20일째에는 모두 실험군에서 유의한 증가를 보였으나 30일째에는 대조군과 차이가 없는 것으로 나타났다. 이는 단기간의 스트레스에는 이들 효소들이 큰 변화를 보이지 않다가 점차 더욱 긴 기간 동안 스트레스에 노출될수록 위 결과에서와 같은 변화를 보이며, 30일 동안 노출된 그룹이 대조군과 차이를 보이지 않았던 것은 어느 정도 시간이 지나면서 차츰 개체가 적응하여 가는 현상으로 여겨진다.

한편, 이들의 변화는 면역조직 화학 검사에서는 nNOS는 대조군과 실험군이 차이를 보이지 않았으나 iNOS와 ROK α 는 스트레스 노출 기간이 길수록 증가하는 소견을 보였고, 이와 같은 소견은 Western blot과 RT-PCR의 결과와 다소 차이를 보여주었다. 이러한 차이가 과연 면역 염색과 관련된 실험 방법상의 오류인지, 조직 내 발현도 변화와 각각의 효소 활성도의 차이에 따른 소견인지에 대해서는 좀 더 심층적인 연구가 필요할 것이다.

결론

스트레스 환경에 노출된 Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐의 소변의 빈도는 대조군에 비하여 유의하게 증가하고 매 회당 배뇨량은 유의하게 감소하였다. 또한 실험군의 방광조

직에서 ROK α , iNOS, nNOS 발현 변화를 측정함으로써 이러한 하부요로증상은 단순한 정신신체화의 요인 외에도 방광근의 다양한 관련 매개체의 변화로 인한 현상임을 추론할 수 있다.

동물을 대상으로 한 연구결과가 인체에 일반화되어 적용시키는 것은 무리가 있을 것이다. 스트레스가 인간에게 미치는 영향은 나이와 개인차 등 매우 많은 변수가 있으므로 앞으로도 이에 대한 보완적인 연구가 진행되어야 할 것이다. 그러나 임상증상을 치료함에 있어서 관련 인자를 조절하거나 제거함으로써 치료 효과를 증진할 수 있다는 것은 주지의 사실이다. 본 연구의 결과에 기초하면 하부요로증상을 호소하는 환자들의 스트레스 관리 또한 치료 효과를 최대화하는 데 기여할 수 있을 것이다.

REFERENCES

1. Kyrrou I, Chrousos GP, Tsigos C. Stress, visceral obesity, and metabolic complications. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1083:77-110
2. Yang SK. Psycho-urology: possible links between stress, anxiety, depression and bladder function. *J Korean Continence Soc* 2006;10:1-8
3. Bigal ME, Lipton RB. Modifiable risk factors for migraine progression. *Headache* 2006;46:1334-43
4. Crofford LJ. Violence, stress, and somatic syndromes. *Trauma Violence Abuse* 2007;8:299-313
5. Sand PK, Appell R. Disruptive effects of overactive bladder and urge urinary incontinence in younger women. *Am J Med* 2006;119(3 Suppl 1):16-23
6. Clemens JQ, Brown SO, Kozloff L, Calhoun EA. Predictors of symptom severity in patients with chronic prostatitis and interstitial cystitis. *J Urol* 2006;175:963-6
7. Glover L, Gannon K, McLoughlin J, Emberton M. Men's experiences of having lower urinary tract symptoms: factors relating to bother. *BJU Int* 2004;94:563-7
8. Cukier JM, Cortina-Borja M, Brading AF. A case-control study to examine any association between idiopathic detrusor instability and gastrointestinal tract disorder, and between irritable bowel syndrome and urinary tract disorder. *Br J Urol* 1997;79:865-78
9. Morrison LM, Eadie AS, McAlister A, Glen ES, Taylor J, Rowan D. Personality testing in 226 patient with urinary incontinence. *Br J Urol* 1986;58:387-9
10. Walters MD, Taylor S, Schoenfeld LS. Psychosexual study of women with detrusor instability. *Obstet Gynecol* 1990;75:22-6
11. Engstrom G, Henningsohn L, Steineck G, Leppert J. Self-assessed health, sadness and happiness in relation to the total burden of symptoms from the lower urinary tract. *BJU Int* 2003;95:810-5

12. McGhan WF. Cost effectiveness and quality of life considerations in the treatment of patients with overactive bladder. *Am J Manag Care* 2001;7(2 Suppl):S62-75
13. Gatenbeck L, Johansson B, Strömberg L, Svensson M. Genital blood flow in male rats subjected to stress stimuli. *Urol Res* 1987;15:297-301
14. Yoon H, Chung WS, Park YY, Cho IH. Effects of stress on female rat sexual function. *Int J Impot Res* 2005;17:33-8
15. Cabral CA, Sampaio FJ, Cardoso LE. Analysis of the modifications in the composition of bladder glycosaminoglycan and collagen as a consequence of changes in sex hormones associated with puberty or oophorectomy in female rats. *J Urol* 2003;170:2512-6
16. Shapiro E, Becich MJ, Perlman E, Lepor H. Bladder wall abnormalities in myelodysplastic bladders: a computer assisted morphometric analysis. *J Urol* 1991;145:1024-9
17. Kato K, Wein AJ, Radzinski C, Longhurst PA, McGuire EJ, Miller LF, et al. Short term functional effects of bladder outlet obstruction in the cat. *J Urol* 1990;143:1020-5
18. Chitale K, Wingard CJ, Clinton Webb R, Branam H, Stopper VS, Lewis RW, et al. Antagonism of Rho-kinase stimulates rat penile erection via a nitric oxide independent pathway. *Nat Med* 2001;7:119-22
19. Kimura K, Ito M, Amano M, Chihara K, Fukata Y, Nakafuku M, et al. Regulation of myosin phosphatase by Rho and Rho-associated kinase (Rho-kinase). *Science* 1996;273:245-8
20. Wibberley A, Chen Z, Hu E, Hieble JP, Westfall TD. Expression and functional role of Rho-kinase in rat urinary bladder smooth muscle. *Br J Pharmacol* 2003;138:757-66
21. Rajasekaran M, Mehta N, Baquir A, Kuntz S. Rho-kinase inhibition suppresses potassium chloride-induced bladder hyperactivity in a rat model. *Urology* 2007;69:791-4
22. Rajasekaran M, Wilkes N, Kuntz S, E Albo M. Rho-kinase inhibition suppresses bladder hyperactivity in spontaneously hypertensive rats. *Neurourol Urodyn* 2005;24:295-300
23. Damaser MS, Whitbeck C, Barreto M, Horan P, Benno H, O'Connor LJ, et al. Comparative physiology and biochemistry of rat and rabbit urinary bladder. *BJU Int* 2000;85:519-25
24. Wang P, Luthin GR, Ruggieri MR. Muscarinic acetylcholine receptor subtypes mediating urinary bladder contractility and coupling to GTP binding proteins. *J Pharmacol Exp Ther* 1995;273:959-66
25. Yildiz A, Hayirli A, Okumus Z, Kaynar O, Kisa F. Physiological profile of juvenile rats: effects of cage size and cage density. *Lab Anim* 2007;36:28-38
26. Demir A, Onol FF, Ercan F, Tarcen T. Effect of cold-induced stress on rat bladder tissue contractility and histomorphology. *Neurourol Urodyn* 2007;26:296-301
27. Cetinel S, Ercan F, Cikler E, Contuk G, Sener G. Protective effect of melatonin on water avoidance stress induced degeneration of the bladder. *J Urol* 2005;173:267-70