

## 운동강도의 차이가 streptozotocin-유도 당뇨쥐의 가자미근 GRP-78과 GLUT-4 발현에 미치는 영향

김양희<sup>1</sup> · 윤진환\*

한남대학교 생활체육학과, <sup>1</sup>고려대학교 체육학과

Received December 22, 2004 / Accepted January 31, 2005

**Effects of Different Exercise Intensities on GRP-78 and GLUT-4 Expression in Soleus Muscle of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats.** Yang-Hee Kim<sup>1</sup> and Jin-Hwan Yoon\*. *Department of Sports Science, Hannam University, Daejeon 133, Korea, <sup>1</sup>Department of Physical Education, Korea University, Seoul 136-701, Korea* - This study investigated the response of GLUT-4 and GRP-78 expression in soleus muscle of streptozotocin-induced diabetic rats by imposing different exercise intensities. F344 rats were randomly divided into 4 groups (n=15 in each group): Control (Control), diabetes-operation (DO), diabetes with low intensity exercise (DLE) and diabetes with high intensity exercise (DHE). The rats in DLE and DHE groups were exercised for 8 weeks by treadmill running. Blood glucose levels in DO were significantly higher compared to that in NORMAL whereas DLE showed the most lowest level in blood glucose among diabetic groups. Diabetic groups exhibited significantly lower level in insulin change and DLE showed significantly higher insulin level among diabetic groups. GRP-78 in DO was significantly (167.05%) higher than that in Control. GRP-78 in DLE was 139.41% which is significantly higher compared to Control but when compared to DO and DHE, it was significant low. GRP-78 in DHE was 194.64% which doubled the protein level in Control and showed the most highest level in all groups. GLUT-4 in DO was significantly (33.58%) higher compared to Control. GLUT-4 in DLE showed 124.58% which was significant high compared to Control, DO and DHE. GLUT-4 in DHE showed 26.91% compared to Control and was the most lowest level among all groups. It seems clear that chiefly low intensity exercise benefits diabetic patients in controlling blood glucose. It was concluded that low intensity exercise induces translocation of GLUT-4 which results in increased blood inflow, thus GRP-78 expression is decreased.

**Key words** – glucose, insulin, GLUT-4, GRP-78,

최근 당뇨병의 발생빈도가 매우 급격히 증가하고 있어 당뇨병과 연관된 합병증이 중요한 건강의 문제로 대두되고 있다. 운동과 당뇨병에 관련한 연구에서 김성수[1]는 규칙적인 운동이 인체 내 혈당 대사에 긍정적인 역할을 함으로써 혈당 수준을 낮추는데 효과적이라고 밝혔다. 윤진환 등[2]은 운동이 당뇨 모델 쥐에서 췌장 랑게르한스섬 내  $\beta$ -세포의 수적 우위 및 내당능 장애를 개선한다고 하였다. 또한, 규칙적인 운동은 인슐린 민감성을 증가시켜 인슐린 저항성을 개선시키는 효과가 있다는 것이 일반적으로 받아들여지고 있다.

이규성 등[3]의 연구에 의하면 운동수행에 따라 가자미근과 족저근의 GLUT-4 단백질은 카테킨 섭취집단 및 비교집단에 비해 가장 크게 발현된 것으로 나타나 운동수행이 골격근의 글루코스 섭취능력과 인슐린 민감도를 향상시켜 혈청 글루코스와 인슐린 수준의 감소와 함께 GLUT-4 단백질의 발현을 증가시킨 것으로 보고하고 있다. 골격근 형태별 GLUT-4 단백질 발현의 증가는 운동으로 유도된 골격근의 인슐린 자극에 의한 글루코스 섭취능력의 향상을 의미하며 운동수

행이 obese Zucker rat의 인슐린 저항성을 개선시키는데 효과가 있다고 볼 수 있다.

당뇨병의 치료와 관리에는 인슐린 투여에 의한 약물요법, 식이요법, 운동 등이 있는데, 다각적인 당뇨병 치료방법과 합병증 예방의 하나로써 적당한 운동을 병행하여 골격근내의 글루코스 섭취를 개선하는 방법이 바람직한 것으로 알려져 있다. 운동이 Type I 당뇨병에 미치는 영향에 관한 연구를 보면 Eisenbarth[10]은 Type I 당뇨병 환자에 있어서 운동 후 혈당조절에 있어서는 변화가 없지만 말초 인슐린 감수성은 증가한다고 하였으며, Lernmark 등[16]은 Type I 당뇨병 환자를 12주간 운동시킨 결과 당 절약효과와 최대산소 섭취량은

증가하였지만 혈당조절, Hemoglobin AI (HbAI)농도, 인슐린 농도에 있어서는 개선되지 않았다고 보고하였다. 또한, 규칙적인 운동은 말초혈관의 혈류량을 증가시켜 근육과 지방세포의 인슐린 민감성을 향상시켜 상대적으로 적은 양의 인슐린으로도 지방세포와 근육조직 내 GLUT-4 활성화와 함께 글루코스 이용률을 높여 글루코스 수준을 조절할 수 있는 하나의 효과적인 방법임을 보고하고 있다[3]. 그러나 운동에 의한 당뇨병의 대사 개선효과가 운동 형태, 운동 강도, 운동

\*Corresponding author

Tel : +82-42-629-7990, Fax : +82-42-629-8402

E-mail : yoonjh@hannam.ac.kr

기간 등에 따라 다양한 반응을 보이고 있다. 한편 대사적 측면에서도 글루코스 고갈이 GRP-78의 발현량을 증가시킨다고 보고 하였다[8].

이러한 연구 결과들은 운동이 근육내의 GLUT-4 발현양의 증가에 긍정적인 효과가 있을 것이라고 시사한다. 현재 GLUT-4 과 GRP-78에 관련된 연구는 국내외에서 당뇨, 비만, 분자 생물학 분야 등에서 활발하게 이루어지고 있다. 하지만 국내에서의 GLUT-4 와 GRP-78 발현을 당뇨와 운동강도를 관련하여 8주동안 관찰한 것은 최소한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 Streptozotocin-유발 당뇨 쥐를 대상으로 운동 강도에 따른 혈당, 인슐린, GLUT-4 와 GRP-78 발현양의 변화를 관찰하여 서로 다른 운동 강도의 부여가 당뇨병의 개선에 미치는 영향을 평가하는데 그 목적이 있다.

### 연구 방법

#### 실험 대상

본 연구의 실험동물은 친자교배 시킨 생후 7주령 된 F344 계열 수컷 흰쥐를 사용하였다. 실험동물은 실험 전 일주일 동안 실험실 환경에 적응시킨 후 8주 동안 사육 및 실험을 하였다. 실험동물은 전 실험기간을 통하여 고형 사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였으며, 온도는 22~24℃, 습도는 50±10%가 유지되도록 하고, 조명은 실험동물의 야행성을 고려하여 밤낮주기(12시간 주/야)가 조절되는 실험실 환경에서 사육하도록 하였다. 실험동물은 총 60마리를 분양받아 무작위 표본추출에 의하여 정상 대조군(15마리), 당뇨유발대조군(15마리), 당뇨유발 저강도 운동군(15마리), 당뇨유발 고강도운동군(15마리) 4개 군으로 각 15마리씩 분류하여 총 60마리를 사용하였다.

#### 당뇨 유발 및 확인

당뇨 유발은 실험동물을 4시간 절식시킨 후 Streptozotocin (Sigma Chemical Co.)을 0.1 M sodium citrate solution (pH 4.5) 용액에 용해시킨 후 50 mg/kg 씩 하복부에 주사하여 당뇨병을 유발시켰다. 당뇨병의 유발 확인은 Streptozotocin 주사 48시간 후 공복상태에서 꼬리정맥으로부터 채혈하여 혈당수준이 300 mg/dl 이상일 때 당뇨병이 유발된 것으로 하였다.

#### 트레드밀 운동 프로토콜

트레드밀 운동은 소형 동물용 트레드밀을 이용하여 실시하였다(DJ2-243, Korea). 실험용 흰쥐 집단은 1주간의 환경적응 훈련을 실시하여 적응기를 거친 후 운동 집단은 저강도 운동 집단, 고강도 운동 집단으로 분류하였으며, 운동 중 흰쥐가 임의로 운동을 중단할 때에는 트레드밀의 벨트 하단에 장치된 12volts의 전기자극을 줌으로써 계속하여 운동할 수

있도록 유도하였다.

운동집단의 트레드밀 운동 프로토콜은 Bedford[7]의 선행 연구에서 제시된 운동 강도에 따른 점증부하 운동 수행을 실시하였다. 점증부하 운동수행은 저강도 운동 집단은 <Fig. 1>과 같이 트레드밀 경사도 0%에서 시작하여 초기 5분간은 2 m/min의 속도로 운동 하다가 5분에서 10 분까지는 5 m/min, 10분부터 30분 까지 20분간은 8 m/min로 운동하도록 부하를 주었다. 고강도 운동 집단은 <Fig. 2>와 같이 경사도 0%에서 시작하여 초기 5 분간은 16 m/min의 속도로 부하 하다가 5분부터 10분까지는 19 m/min, 10부터 30분까지 20분간은 24 m/min로 하루 1회 총 30분간 운동을 하도록 부하를 주었다. 전 훈련기간 동안 트레드밀 훈련에 익숙한 연구원이 트레드밀과 주위환경을 관찰하면서 쥐가 정상적으로 운동을 실시하는지 운동 과부하에 의한 쇼크가 발생하는지를 관찰하도록 하였다. 운동은 소형동물용 트레드밀에서 운동 빈도는 주당 5회, 운동시간은 하루 일회씩 30분 총 8주간 실시하였다.

### 혈액 채취 및 분석 방법

#### 혈액 채취

실험쥐들의 혈액 채취는 8주간의 운동수행을 끝낸 뒤 24시간 뒤 최소 10시간 이상의 공복을 유지한 상태에서 혈액을 채취하였다. 그 절차는 먼저 급속적으로 호흡기 마취가 가능한 Chloroform으로 호흡기를 통한 마취를 시킨 후 개복을 하지 않은 상태에서 실험쥐를 앙와위 자세로 고정시킨 뒤 일 반 10 ml ( 21 gage) 주사기로 심장의 좌심실에 침자 하여 약 5 ml 이상의 혈액을 채취하여 이용하였다. 채취된 혈액은 즉시 혈청 튜브에 넣어 3000 rpm에서 3분간 원심 분리하여 혈청을 분리하여 -70이하에서 냉동 분석 전 까지 보관하였다.

#### 혈당 분석

체중은 모든 군에서 실험 시작과 함께 측정된 후 정기적

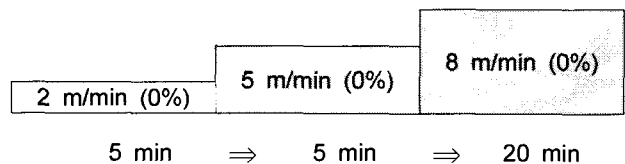


Fig. 1. Low intensity exercise protocol

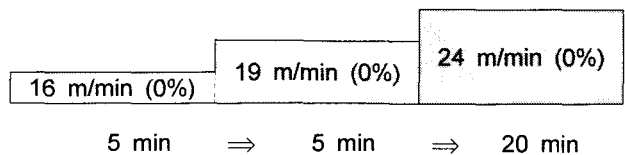


Fig. 2. High intensity exercise protocol

으로 매주 1회씩 소형 동물용 체중계(TANITA co., Japan)를 이용하여 측정하였으며, 혈당은 당뇨 유발 후 측정된 후 정기적으로 매주 1회씩 혈액을 꼬리정맥에서 채혈하여 혈당측정기인 SUPER GLUCOCARD (ARKAY, Inc., Japan)를 이용하여 측정하였다.

### 혈중 인슐린 분석

흰쥐의 심장에서 채혈한 혈액샘플은 coating된 인슐린 항체관(insulin-specific antibody tube) 속에 넣은 다음 원심분리기(microfuge)로 20분 동안 혈청을 분리한다. 그리고 나서 200  $\mu$ l의 혈청(serum)과 I-insulin을 얻고 초저온 냉동 보관 한 다음 녹십자 검사실에서 위에 떠있는 맑은 액체를 제거하고 tube 안의 방사능(radioactivity)을 Coat-A-count Insulin (DPC, USA) 키트를 사용하여 혈청 안의 insulin 농도를 잰다. 검사 방법은 제조사의 지침에 따랐으며 Gamma counter (Hewlett Packard, USA)로 측정하였다.

### 조직 절취 및 분석 방법

#### 조직절취 및 GRP-78과 GLUT-4 발현 분석

8주간 운동 후 Pentobarbital (50 mg/kg)을 복강 내에 주입시켜 오른 쪽 하퇴에서 가자미근을 분리한다. 가자미근 조직(0.5 g)을 샘플 부피의 5배 정도의 lysing buffer (0.1 M K phosphate ; 0.5 M EDTA, pH 7.2)와 함께 얼음에 넣고 균질화(homogenizer) 시킨 후 15,000 rpm으로 20분간, 4°C에서 원심분리 시켜 상층을 분리해 낸다. 총 단백질량은 BSA (bovine serum albumin, 570 nm)을 이용하여 정량화 하였다. 10% separating gel (30% acrylamide : bisacryl amide, 1.5 M tris pH 8.8, 10% SDS, TEMED, 10% ammonium persulfate)과 5% stacking gel (30% acrylamide : bisacryl amide, 1 M tris pH 6.8, 10% SDS, TEMED, 10% ammonium persulfate)을 만들어 사용 하였다. 원심분리(15,000 rpm, 20분)한 상층액과 SDS loading buffer (60 mM tris pH 6.8, 25% glycerol, 2% SDS, 14 mM 2-mercaptoethanol, 0.1% Bromophenol Blue)를 잘 혼합한 후 100°C에서 10분간 끓여 단백질을 변성시킨 후 식혀서 다시 15,000 rpm으로 20분간, 4°C에서 원심 분리한다. 스탠다드 마커 (SDS - PAGE Molecular Weight Standards, Bio - Rad)와 함께 각 샘플을 Mini - Protein II dual - slap apparatus (Bio - Rad)에 준비된 stacking gel well에 같은 total protein content (200  $\mu$ g)가 되도록 분주하고, 80볼트에서 2시간 정도 샘플이 바닥에 닿을 때까지 전기영동 하였다.

Transfer buffer (190 mM glycine, 50 mM Tris base, 0.05% SDS, 20% methanol)에 적신 PVDF membrane, What mann 3 M paper, 전기영동한 젤, ECL membrane을 차례대로 겹쳐 Mini trans - blot module (Bio - Rad)에 장치한 후 40볼트로 2시간 전사한다. Membrane으로 증착이 끝나면 rocker platform 위에서 1시간 동안 membrane을 2% skim milk 용액으로 blo-

cking 시킨다. 1차 항체(GLUT - 4 rabbit antibody와 GRP-78 rabbit antibody)를 blocking 용액(2 % skim milk)으로 1 : 500으로 희석시켜 1시간 30분 동안 흔들어주고 난 다음 TNT 용액으로 10분씩 3차례 행구어 준다. 그 후 항체(Goat anti - rabbit antibody)를 blocking용액(2% skim milk)으로 1 : 1,000으로 희석시켜 1시간 동안 흔들어주고 난 다음 TNT 용액으로 10분씩 3차례 행구어 준다. 마지막 단계로 alkaline phosphate buffer (5 M NaCl, 2 M MgCl<sub>2</sub>, 2 M Tris - base pH 9.5)에 BCIP/NBT(1 tablet/10 ml, Sigma, B - 5655)를 넣어 녹인 용액에 membrane을 넣고 30분간 발색시킨다. 얻어진 membrane을 densitometer (Sharp jx - 330)를 이용하여 스캔 한 후 이미지 분석 프로그램(Image Master ver. 3.0, Biotech pharmacia)을 통해 GRP-78과 GLUT-4 단백질량을 산출하였다.

### 자료 처리

측정된 결과들은 SAS GLM program을 이용하여 각 항목에 대한 평균(mean) 및 표준편차(standard deviation ; S. D.)를 산출하였다. GLUT-4 단백질과 GRP-78 단백질에 대한 집단 간 차이는 일원 분산분석(one-way analysis of variance; one-way ANOVA)을 실시하였다. 사후검정은 Duncan's post-hoc test를 실시하였으며, 유의수준은  $p < .05$ 로 설정하였다.

## 연구 결과

### 혈당의 변화

STZ로 당뇨가 유발된 흰쥐에게 8주간 서로 다른 강도의 운동을 수행시킨 후 혈중 혈당의 변화는 <Table 1>과 같이 정상 대조군은  $86.33 \pm 5.08$  mg/dl, 당뇨 대조군은  $549.84 \pm 14.69$  mg/dl, 당뇨 저강도 운동군은  $477.86 \pm 14.27$  mg/dl, 당뇨 고강도 운동군은  $543.90 \pm 7.44$  mg/dl 로 나타났다.

집단간 차이를 알아보기 위해 one-way ANOVA를 실시한 결과는 집단간 유의한 차가 나타났다 [ $F_{(3, 56)} = 5861.635$ ,  $p = .000$ ]. 이러한 유의차에 대한 검증을 위해 Duncan's post-hoc

Table 1. The change of blood glucose in each group post 8 weeks (mg/dl)

Groups	N	blood glucose
Control	15	$86.33 \pm 5.08^a$
DO	15	$549.84 \pm 14.69^{b*}$
DLE	15	$477.86 \pm 14.27^*$
DHE	15	$543.90 \pm 7.44^{b*}$

All values are means  $\pm$  standard deviations. a,b,c,d : Different superscripts in the same column indicate significant difference by the Duncan's post hoc ( $p < .05$ ), O : diabetes-operation, DLE : diabetes+low-intensity exercise, DHE : diabetes+high-intensity exercise

\*Compared to Control

test의 사후검증을 실시한 결과 정상 대조군에 비해 당뇨 집단이 유의하게 높은 수준을 보였고, 당뇨 집단 내에선 저강도 운동군이 다른 모든 당뇨 집단 보다 유의하게 낮은 경향을 보였다.

**Insulin의 변화**

STZ로 당뇨가 유발된 흰쥐에게 8주간 서로 다른 강도의 운동을 수행시킨 후 혈중 Insulin의 변화는 <Table 2>와 같이 정상 대조군은 3.75±0.03 mg/dl, 당뇨 대조군은 2.56±.01 mg/dl, 당뇨 저강도 운동군은 3.53±0.02 mg/dl, 당뇨 고강도 운동군은 2.77±.18 mg/dl 로 나타났다.

집단간 차이를 알아보기 위해 one-way ANOVA를 실시한 결과는 집단간 유의한 차가 나타났다[F(3, 56)=566.375, p=.000]. 이러한 유의차에 대한 검증을 위해 Duncan's post-hoc test의 사후검증을 실시한 결과 네 집단이 모두 유의한 차이를 보였다. 정상 대조군에 비해 당뇨 집단이 유의하게 낮은 수준을 보였고, 당뇨 집단 내에선 저강도 운동군이 다른 모든 당뇨 집단 보다 유의하게 높은 경향을 보였다. 당뇨 집단 내에서 가장 낮은 집단은 당뇨 대조군 인 것으로 나타났다.

**골격근 GRP-78 발현**

STZ로 당뇨가 유발된 흰쥐에게 8주간 서로 다른 강도의 운동을 수행시킨 후 골격근에서 발현되는 GRP-78의 발현량을 알아보기 위해 Western blot을 실시하였다. 여기서 나타난 정성적 자료는 <Fig. 3>과 같이 나타났으며, 이에 대한 정량적 분석 자료는 <Table 3>과 같이 정상 대조군의 GRP-78 발현량을 100으로 하여 다른 집단과 비교하였다.

집단간 가지미근 내 GRP-78 발현량의 차이를 알아보기 위해 one-way ANOVA를 실시한 결과 집단간 유의한 차가 나타났다[F(3, 56)=571.981, p=.000]. 이러한 유의차에 대한 검증을 위해 Duncan's post-hoc test를 실시한 결과 당뇨가 유발된 흰쥐 가지미 근에서의 GRP-78 발현량은 정상 쥐의 167.05(%) 수준으로 유의하게 증가한 것을 관찰 할 수 있었

고, 저강도 운동을 수행한 집단에서의 GRP-78 발현량은 139.41(%)로 정상 흰쥐에서 발현되는 양에 비해 유의하게 높은 수준을 보이기는 했지만 당뇨 유발 대조군과 고강도 운동군에 비해서는 유의하게 낮은 수준으로 나타났다. 고강도 운동을 수행한 집단에서는 정상 쥐의 194.64(%) 수준으로 정상 쥐의 거의 2배에 가까운 수준으로 본 실험에서 분류된 4 그룹 중 가장 높은 수치를 나타냈다.

**골격근 GLUT-4 발현**

STZ로 당뇨가 유발된 흰쥐에게 8주간 서로 다른 강도의 운동을 수행시킨 후 골격근에서 발현되는 GLUT-4 발현량을 알아보기 위해 Western blot을 실시하였다. 여기서 나타난 정성적 자료는 <Fig. 4>와 같이 나타났으며, 이에 대한 정량적 분석 자료는 <Table 4>와 같이 정상 대조군의 GLUT-4 단백질 발현량을 100으로 하여 다른 집단과 비교하였다.

집단간 가지미근 내 GLUT-4 발현량의 차이를 알아보기 위해 one-way ANOVA를 실시한 결과는 집단간 유의한 차가 나타났다[F(3, 56)=2433.487, p=.000]. 이러한 유의차에 대한 검증을 위해 Duncan's post-hoc test를 실시한 결과 당뇨가 유발된 흰쥐 가지미 근에서의 GLUT-4 발현량은 정상 쥐의 33.58(%) 수준으로 유의하게 감소한 것을 관찰 할 수 있었고, 저강도 운동을 수행한 집단에서의 GLUT-4 발현량은 124.58(%)로 정상 흰쥐에서 발현되는 양에 비해 유의하게 높은 수준을 보였으며, 당뇨 유발 대조군과 고강도 운동군에 비해서도 유의하게 높은 수준으로 나타났다. 고강도 운동을 수행한

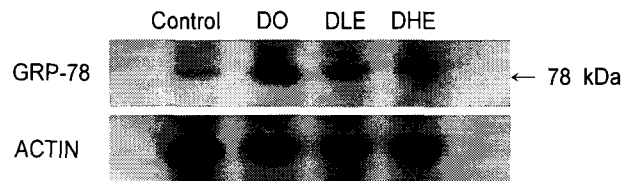


Fig. 3. GRP-78 expression in soleus muscle of rats. DO : diabetes-operation, DLE : diabetes+low-intensity exercise, DHE : diabetes+high-intensity exercise

Table 2. The change of insulin in each group post 8 weeks (μU/ml)

Groups	N	serum insulin
Control	15	3.75 ± 0.03 <sup>a</sup>
DO	15	2.56 ± 0.01 <sup>b*</sup>
DLE	15	3.53 ± 0.02 <sup>c*</sup>
DHE	15	2.77 ± 0.18 <sup>d*</sup>

All values are means ± standard deviations. a,b,c,d : Different superscripts in the same column indicate significant difference by the Duncan's post hoc(p<.05), DO : diabetes-operation, DLE : diabetes+low-intensityexercise, DHE : diabetes+high-intensity exercise

\*compared to Control

Table 3. GRP-78 expression in soleus muscle of rats (unit : optical density)

Groups	N	GRP-78 protein(%)
Control	15	7413.33 ± 557.76 <sup>a</sup> (100%)
DO	15	12384.93 ± 528.68 <sup>b*</sup> (167.05%)
DLE	15	10359.67 ± 380.06 <sup>c*</sup> (139.41%)
DHE	15	14429.20 ± 370.15 <sup>d*</sup> (194.64%)

All values are means ± standard deviations. a,b,c,d : Different superscripts in the same column indicate significant difference by the Duncan'sposthoc (p<.05), DO : diabetes-operation, DLE : diabetes+low-intensityexercise, DHE : diabetes+high-intensity exercise

\*Compared to Control

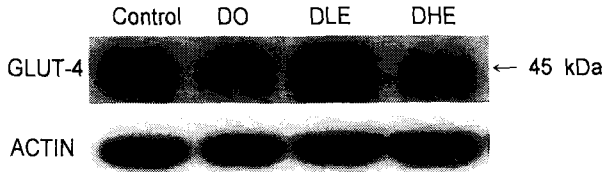


Fig. 4. GLUT-4 expression in soleus muscle of rats.  
DO : diabetes-operation, DLE : diabetes+ low-intensity exercise, DHE : diabetes+high-intensity exercise

Table 4. GLUT-4 expression in soleus muscle of rats (unit : optical density)

Groups	N	GLUT-4 protein(%)
Control	15	8478.93 ± 398.19 <sup>p</sup> (100%)
DO	15	2847.66 ± 85.72 <sup>c*</sup> (33.58%)
DLE	15	10562.93 ± 462.04 <sup>a*</sup> (124.58%)
DHE	15	2282.26 ± 193.40 <sup>d*</sup> (26.91%)

All values are means ± standard deviations. a,b,c,d : Different superscripts in the same column indicate significant difference by the Duncan's posthoc(p<.05), DO : diabetes-operation, DLE : diabetes+low-intensityexercise, DHE : diabetes+high-intensity exercise

\*Compared to Control

집단에서는 정상 쥐의 26.91(%) 수준으로 정상 쥐의 유의하게 낮은 발현 량을 보였으며, 본 실험에서 분류된 4 그룹 중 가장 낮은 수치를 나타냈다.

### 고 찰

본 연구에서는 Streptozotocin-유발 당뇨 쥐를 대상으로 8 주 동안 운동 강도에 따른 혈당, 인슐린, 골격근 내 GLUT-4 발현 량과 GRP-78 발현 량 변화를 관찰함으로써 당뇨 쥐의 혈당을 낮추는데 효과적인 운동 강도는 무엇이며, 기전적인 원인은 무엇인지를 밝히고자 실시되었다.

운동 시에 일어나는 골격근의 GLUT-4 발현은 insulin-PI-3 kinase-Akt 경로와는 독립적으로 일어난다고 보고 되고 있다. 즉, 운동 시에는 인슐린과 관계없이 다양한 인자에 의해 GLUT-4 발현이 유도될 수 있는데, 특히 근수축 활동 시 근형질세포로부터 근형질 내로 Ca<sup>++</sup>농도의 증가는 PKC (calcium dependent protein kinase)의 활성도를 증가시킨다. PKC의 활성도 증가는 세포 내로 글루코스의 이동을 촉진시키며, 근수축이 이루어지는 동안 mitogen-activated protein kinase (MAPK)활성을 유도하는데 MAPK 역시 근 수축 시 글루코스 이동을 유도하는 인자로서 알려지고 있다. 이처럼 운동 중 GLUT-4의 발현에는 insulin과는 독립적으로 Ca<sup>++</sup>, adenosine, nitric oxide 및 AMPK와 같은 다양한 인자들이 관여하는 것으로 설명되고 있다. 운동 또한 근세포 내 GLUT-4의 발현을 유도한다는 연구 결과들이 보고 되고 있는데, Ka-

wanaka 등[13]은 지구력 트레이닝이나 일회성 운동에 의해 골격근 내 GLUT-4 mRNA 및 protein의 발현이 증가함과 더불어 글루코스의 세포 내 이동이 증가한다는 연구 결과를 보고하여 운동에 따른 글루코스의 세포막 투과성의 증가는 GLUT-4에 의해 조절된다고 하였다.

운동은 혈당 조절에 중요한 역할을 하며, 심혈관 질환 합병증을 예방하는데 도움이 되는 것으로 알려져 있다[9]. 특히 적절한 운동을 할 경우 간과 근육에서 인슐린에 대한 감수성이 증가되고, 간에서 당 신생이 억제되어 근육 조직에서 당 섭취가 증가되며, 혈당이 감소된다고 한다. 그 외 기전적인 접근에서 윤진환 등[2]은 당뇨 유발 쥐를 대상으로 운동을 실시한 결과 운동이 β-세포의 손상정도가 낮게 나타나는 경향을 보고 하였고, Oshida[17]는 운동 자체로 근육 내 GLUT-4 발현 량의 증가와 더불어 혈당 감소 효과가 나타났다고 보고하고 있다.

β-세포의 양적 변화는 복제와 신생 그리고 각 β-세포 크기 변화와 세포 소실율의 변화에 의해서 이루어지게 되는데, 신체 활동은 islets의 비대와 결합조직의 증식을 일으킴으로써 체중에 대한 β-세포 질량을 유의하게 증가시킨다고 보고하고 있다[2].

이 같은 결과는 저강도의 운동은 고강도 운동에 비해 당뇨병의 특징인 지속적인 β-세포 손상을 지연시켜 β-세포 소실율의 저하가 혈중 인슐린 농도를 높여 줌으로써 혈당 수준을 감소시켜주는 하나의 기전적 원인이 되었을 것으로 생각된다. 그 외 췌장 자체에 공급되는 혈류량의 증가로 췌장 조직에 풍부한 영양과 산소 등을 공급하여 재생에 효과를 주었을 것이라는 추정도 할 수 있겠으나, 이 같은 추정의 규명을 위해선 좀더 다른 염색방법을 이용한 기전적인 연구가 실행되어야 할 것으로 생각된다.

또한, 운동은 근육으로의 혈당 이동을 증가시키고, 증가된 혈당의 세포내 유입을 위해 GLUT family 의 발현 량을 증가시키게 된다. 이들 발현되는 GLUT family 중 가장 많은 양을 차지하는 단백질은 GLUT-4 이고, 세포내에서의 위치 이동은 근 수축에 의해 이동하게 된다고 한다. Streptozotocin으로 당뇨가 유발된 쥐의 근육세포에서 GLUT-4 mRNA의 발현 및 인슐린 수용체의 민감성에 영향을 미치는 운동의 효과를 알아본 결과, 6주간의 운동은 당뇨 쥐의 혈당 수준을 감소시켰고, Western blotting 실험결과 당뇨 운동군과 대조군을 비교했을 때 56%~60.8%의 GLUT-4 단백질이 증가하였다고 보고하고 있다. 이것은 GLUT-4 mRNA와 GLUT-4의 량이 적을수록 당뇨 쥐에서 고혈당의 원인이 될 수 있고, 운동은 GLUT-4 mRNA와 GLUT-4의 발현 량을 증가시켜 인슐린 감수성을 개선하고, 당뇨 쥐의 고혈당을 낮출 수 있다는 것이다.

그 외 여러 선행 논문에서 운동이 GLUT-4 농도에 긍정적인 변화를 가져온다고 지적했는데, 운동이 골격근 내 GLUT-

4 발현량을 증가시켜 당 수송 능력을 개선했다고 보고가 있으며, 최덕구[5]는 규칙적인 걷기 운동이 당뇨 쥐의 혈당 및 인슐린 민감도에 긍정적인 영향을 미쳤다고 보고하였다.

본 연구에서 Streptozotocin으로 당뇨를 유발시킨 흰쥐를 대상으로 운동 강도 처치에 따른 GLUT-4 발현량을 비교한 결과, 기본적으로 당뇨가 유발된 흰쥐의 GLUT-4 발현량은 정상 쥐에 비해 현저하게 감소하는 것을 볼 수 있었다. 이중 8주 동안 저강도 운동 수행한 쥐들의 경우는 정상 쥐 수준에 가까운 발현량을 관찰할 수 있었다. 하지만 8주 동안 고강도 운동을 수행한 쥐들은 당뇨 대조 집단보다도 적은 양의 단백질 발현량을 관찰할 수 있었다. 이러한 결과, 즉 저강도 운동을 수행한 경우 GLUT-4 발현량의 증가는 운동으로 인한 근수축이 증가하여 세포내로 GLUT-4의 translocation signal이 전달되어 발현량이 증가되었던 것으로 생각된다. 하지만, 고강도의 운동 수행은 근 수축을 증가시키기는 하나 그 후 과정에 그 어떤 문제가 개입되어 GLUT-4 발현량이 감소한 것으로 생각되어진다. 이 같은 사실의 규명은 좀더 연구가 필요할 것으로 생각된다. 이러한 결과들은 규칙적인 저강도 운동 수행이 혈당 조절에 유익하지만, 고강도의 운동 수행은 혈당을 조절하는데 전혀 도움이 되지 않는다는 것을 보여주는 결과라 하겠다. 이와 같은 결과로 미루어 볼 때 당뇨병은 고혈당을 수반하는 질환임에도 불구하고 운동은 혈당을 낮추는데 효과적이라 할 수 있으며, 그 중에서도 저강도의 운동은 혈당을 낮추는데 가장 효과적인 운동이라 할 수 있겠다. 또한 본 연구 결과의 기전적인 측면에서 저강도의 운동이 혈당 조절 호르몬인 인슐린의 분비를 담당하고 있는 췌장 랑게르한스섬 내의  $\beta$ -세포 손상을 억제하는 효과가 있었기 때문이다[2]. 그와 동시에 인슐린 신호에 의해 가로세관과 세포막을 투과하여 세포내로 혈당을 유입시키는 작용을 하는 촉진적 운반체인 GLUT-4 발현량의 증가가 복합적으로 일어나 혈당 대사에 긍정적으로 작용했기 때문인 것을 확인할 수 있었다.

앞서 말한 바와 같이 당뇨병은 대사 장애를 일으키는 전신성 질환으로 췌장에서 대사적 또는 상대적 인슐린 분비 부족이나 표적 세포에서의 인슐린 민감도가 떨어져 혈당(glucose) 수준이 이상적으로 높게 나타나는 질환을 말한다. 이러한 당뇨병 질환과 관련 깊은 포도당은 산소와 더불어 인체 내 진핵세포들이 에너지대사를 통해 활성을 유지하는데 절대적인 요소로서 만약 세포내 포도당이 결핍하게 되면 변화된 세포내 환경을 보상하기 위해 세포내의 GRP-78과 같은 스트레스 단백질들은 활성화게 된다.

이 같은 특성을 가진 GRP-78(glucose regulated protein 78KDa)은 스트레스성 단백질의 하나로서 소포체내에서  $Ca^{2+}$ 에 의존적으로 immunoglobulin heavy chain에 결합하여 chaperone의 기능을 하는 항체 결합 단백질(BiP: immunoglobulin binding protein)로 알려져 있다[15]. 이 단백질은 Glu-

tamate의 신경독성(excitotoxicity)과 세포사멸(apoptosis)에 저항하여 신경 세포를 보호하고[12], 저산소증 발생 후 다시 산소를 공급하게 되면 염증 전 반응을 일으키는 IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  등의 사이토카인(cytokine) 분비를 자극하는 것으로 알려져 있다[11]. 특히 세포에서의 산소결핍(oxygen deprivation)에 의한 저산소증(hypoxia)이나 글루코스 고갈로 인한 당 결핍증(glucose deprivation) 등의 상태가 발생되면 그 발현량이 증가하게 되는 특징이 있다[14,8].

결국, 인체 내 조직 중 골격근은 식사 후 70% 이상의 당분이 흡수되는 조직으로 증가된 혈당을 조절하는데 중요한 조직이라 할 수 있는데, 당뇨병 환자의 경우 인슐린 민감도가 떨어짐으로 해서, 인슐린 또는 근 수축 자극에 의해 혈당을 세포 안으로 넣어 주는 역할을 하는 GLUT-4의 발현이 저하되기 때문에 골격근에서 혈당을 받아들이는 기능이 현저하게 떨어진다. 이러한 현상은 골격근 세포내에 당 결핍을 유발하게 될 것이고, 이렇게 되면, 세포내에서는 변화된 환경 즉, 세포내 당 결핍을 극복하기 위해 세포내 GRP-78은 증가하게 된다[6].

본 연구에서의 운동 강도에 따른 흰쥐 가지미근 내 GRP-78 발현량은 당뇨 유발 쥐의 경우 정상 쥐의 유의하게 증가한 것을 관찰할 수 있었고, 저강도 운동을 수행한 집단에서의 GRP-78 발현량은 정상 흰쥐에서 발현되는 양에 비해 유의하게 높은 수준을 보이기는 했지만 당뇨 유발 대조군과 고강도 운동 군에 비해서는 유의하게 낮은 수준으로 나타났다. 또한 고강도 운동을 수행한 집단에서는 정상 쥐의 거의 2배에 가까운 수준으로 본 실험에서 분류된 4 그룹 중 가장 높은 수치를 나타냈다.

이러한 사실은 당뇨로 인해 당뇨 흰쥐의 가지미근 내의 세포내 당 결핍은 높은 수준으로 유발되게 되는데 저강도 운동은 높은 수준으로 유지되었던 세포내 당 결핍 상태의 저하시키는 역할을 한 것이라 할 수 있다. 하지만 오히려 고강도의 운동은 세포내 당 결핍 상태를 더욱더 증가시키는 것이라 할 수 있다.

이렇게 저강도 운동에서의 GRP-78의 감소는 저강도 운동이 인슐린 또는 근 수축 자극에 의해 혈당을 세포 안으로 넣어 주는 역할을 하는 GLUT-4의 발현이 증가되어 골격근내의 당 유입을 증가시켜 세포내 GRP-78이 저하되는 것으로 생각된다.

이러한 결과는 임예현 등[4]이 흰쥐를 대상으로 일회적인 수영운동을 시킨 후 나타난 GRP-78 발현 수준과 상반되는 결과이다. 이러한 상반된 결과는 임예현 등[4]의 연구가 일회적인 운동이고, 조직 절취 시점이 운동 직후라는 사실과는 달리 본 연구에서는 장기간의 운동이고 조직 절취 시점이 장기간의 운동 실시한 후 안정상태에서 절취한 것이기 때문인 것으로 생각되며, 운동유형 및 강도에 따라 GRP-78과 GLUT-4 수준이 달리 변화될 수 있다는 사실을 확인할 수 있었다.

결론적으로 저강도의 운동은 당뇨 질환자의 혈당을 낮추는 데 가장 효과적인 운동이라 할 수 있으며, 이러한 결과의 기전적인 원인은 저강도의 운동이 근육 내 GLUT-4의 증가로 세포내 당 유입을 촉진시킴으로써 해서 나타난 사실이라 생각되며 이 같은 사실은 GRP-78의 발현 량의 감소로 확인 할 수 있었다.

추후 좀더 다양한 운동 강도와 다양한 조건에서의 기전적인 접근이 필요할 것으로 생각된다.

### 요 약

본 연구에서는 Streptozotocin-유발 당뇨 쥐를 대상으로 8 주 동안운동 강도에 따른 혈당, 인슐린, 골격근 내 GLUT-4 발현 량과 GRP-78 발현 량 변화를 관찰함으로써 당뇨 쥐의 혈당을 낮추는데 효과적인 운동 강도는 무엇이며, 기전적인 원인은 무엇인지를 밝히고자 실시되었다. 본 연구에서 Streptozotocin으로 당뇨를 유발시킨 흰쥐를 대상으로 운동 강도 처치에 따른 GLUT-4 발현 량을 비교한 결과, 기본적으로 당뇨가 유발된 흰쥐의 GLUT-4 발현 량은 정상 쥐에 비해 현저하게 감소하는 것을 볼 수 있었다. 이중 8주 동안 저강도 운동 수행 한 쥐들의 경우는 정상 쥐 수준에 가까운 발현 량을 관찰 할 수 있었으며, 흰쥐 가지미 근 내 GRP-78 발현 량은 당뇨 유발 쥐의 경우 정상 쥐의 유의하게 증가한 것을 관찰 할 수 있었고, 저강도 운동을 수행한 집단에서의 GRP-78 발현 량은 정상 흰쥐에서 발현되는 양에 비해 유의하게 높은 수준을 보이기는 했지만 당뇨 유발 대조군과 고강도 운동 군에 비해서는 유의하게 낮은 수준으로 나타났다. 결론적으로 저강도의 운동은 당뇨 질환자의 혈당을 낮추는 데 가장 효과적인 운동이라 할 수 있으며, 이러한 결과의 기전적인 원인은 저강도의 운동이 근육 내 GLUT-4의 증가로 세포내 당 유입을 촉진시킴으로써 해서 나타난 사실이라 생각되며 이 같은 사실은 GRP-78의 발현량의 감소로 확인할 수 있었다.

### 참 고 문 헌

1. 김성수 (1999). 장시간의 유산소성 훈련이 고혈압과 당뇨병을 동반한 비만성인의 혈중 콜레스테롤 농도, 체지방 및 혈압에 미치는 영향. 한국사회체육학회지, 11, 183-193.
2. 윤진환, 이희혁, 정경훈, 김종오, 류성환, 정일규, 김영표, 오봉석 (2003). 운동이 노화된 흰쥐 췌장 랑게르한스섬의 형태학적 변화에 미치는 영향. 운동 과학, 12(1), 115-123.
3. 이규성, 김문희, 홍순모, 허성민, 원상호, 김윤만, 윤지성, 조준용 (2003). 카테킨 섭취와 지구성운동이 Obese Zucker Rat의 골격근 형태별 GLUT-4 단백질과 혈청 지질성분에 미치는 영향. 한국사회체육학회지, 20, 1263-1276.
4. 임예현, 조준용, 정국현, 이규성, 오윤선 (2003). 탈진적인 1 회성 수영운동과 단시간 금식 복합 조건이 쥐의 심장근과 골격근의 GLUT-4와 GRP-78 발현에 미치는 영향. 한국사회체육학회지, 19, 1385-1396.
5. 최덕구(2004). 규칙적인 걷기 운동과 식이가 Streptozotocin 당뇨 쥐의 몸무게, 혈당, 인슐린 민감성과 췌장, 신장, 간장의 세포 형태, 그리고 항산화 효소의 활성화에 미치는 영향. 경희 대학교 박사학위 논문.
6. Abumrad, N.N., Cherrington, A.D., Williams, P.E., Lacy, W.W., & Rabin, D.(1982). Absorption and disposition of a glucose load in the conscious dog. *Am. J. Physiol.*, 242(6), 398-406.
7. Bedford, T. G., Tipton, C. M., Wilson, N. C., Oppliger, R. A., Gisolfi, C. V. (1979). Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. *J. Appl. Physiol.*, 47(6), 1278-1283.
8. Dhahbi, J. M., Mote, P. L., Tillman, J. B., Walford, R. L., & Spindler, S. R. (1997). Dietary energy tissue-specificity regulates endoplasmic reticulum chaperone gene expression in the liver of mice. *J. Nutr.*, 127(9), 1758-1764.
9. Devlin, J. T., Hirshman, M. F., Horton, E. S., & Horton, E. D. (1987). Enhanced peripheral insulin and pancreatic insulin sensitivity in NIDDM men after single bout of exercise. *Diabetes*, 36, 434-439.
10. Eisenbarth, G. S. (1986). Type I diabetes mellitus: a chronic autoimmune disease. *N. Engl. J. Med.*, 314, 1360-1368.
11. Hori, O., Matsumoto, M., Kuwabara, K., Maeda, Y., Ueda, H., Ohtsuki, T., Kinoshita, T., Ogawa, S., Stern, D.M., & Kamada, T. (1996). Exposure of astrocytes to hypoxia/ reoxygenation enhances expression of glucose-regulated protein 78 facilitating astrocyte release of the neuroprotective cytokine interleukin 6. *J. Neurochem.* 66(3), 973-979.
12. Kakimura, J., Kitamura, Y., Taniguchi, T., Shimohama, S., & Gebicke-Haerter, P. J. (2001). Bip/GRP78-induced production of cytokines and uptake of amyloid-beta (1-42) peptide in microglia. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 16, 281(1), 6-10.
13. Kawanaka, K. Tabata, I., Katsuta, S., & Higuchi. M. (1997). Changes in insulin-stimulated glucose transport and GLUT-4 protein in rat skeletal muscle after training. *J. Applied Physiol.*, 83(6), 2043-2047.
14. Lee, A. S. (1987). Coordinated regulation of a set of genes by glucose and calcium ionophore mammalian cells. *TIBS.*, 12, 20-23.
15. Lee, A. S. (1992). Mammalian stress response: induction of the glucose-regulated protein family. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 4(2), 267-273.
16. Lernmark, A., Hagglof, B., Freedman, Z., Irvine, J., Ludvigsson, J., & Holmgren, G. (1981). A prospective analysis of antibodies reacting with pancreatic islet cells in insulin-dependent diabetic children. *Diabetologia.*, 20, 471-474.
17. Oshida, Y., Yamanouchi, K., Hayamizu, S., & Sato, Y. (1989). Long-term mild jogging increases insulin action despite no influence on body mass index or VO<sub>2</sub>max. *J. Appl. Physiol.*, 66, 2206-2210.