

# 홍경천 섭취와 운동수행이 비만 쥐의 인슐린 민감도와 골격근내 당수송 관련 단백질 발현에 미치는 영향\*

오재근<sup>§</sup> · 신영오 · 정희정 · 이정은

한국체육대학교 스포츠의학실

## Effect of *Rhodiola Sachalinensis* Administration and Endurance Exercise on Insulin Sensitivity and Expression of Proteins Related with Glucose Transport in Skeletal Muscle of Obese Zucker Rat\*

Oh, Jae Keun<sup>§</sup> · Shin, Young Oh · Jung, Hee Jung · Lee, Jung Eun

Department of Sports Medicine, Korea National Sport University, Seoul 138-763, Korea

### ABSTRACT

Peripheral insulin resistance in obese/type II diabetes animals results from an impairment of insulin-stimulated glucose uptake into skeletal muscle. Insulin stimulate the translocation of GLUT4 from intracellular location to the plasma membrane. Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptors (SNAREs) is implicated in mediation of fusion of GLUT4-containing vesicle with the plasma membrane. Present study investigated regulatory effects of *Rhodiola sachalinensis* administration and exercise training on the expression of GLUT4 protein and SNAREs protein in skeletal muscles of obese Zucker rats. Experimental animals were randomly assigned into one of five groups ; lean control (LN), obese control (OB), exercise-treated (EXE), *Rhodiola sachalinensis*-treated (Rho), combine of Rho & EXE (Rho-EXE). All animals of exercise training (EXE, Rho-EXE) performed treadmill running for 8 weeks, and animals of Rho groups (Rho, Rho-EXE) were dosed daily by gastric gavage during the same period. After experiment, blood were taken for analyses of glucose, insulin, and lipids levels. Mitochondrial oxidative enzyme (citrate synthase, CS ;  $\beta$ -hydroxyacyl-CoA dehydrogenase,  $\beta$ -HAD) activity were analysed. Skeletal muscles were dissected out for analyses of proteins (GLUT4, VAMP2, syntaxin4, SNAP23). Results are as follows. Exercise and/or *Rhodiola sachalinensis* administration significantly reduced body weight and improved blood lipids (TG, FFA), and increased insulin sensitivity. Endurance exercise significantly increased the activity of mitochondrial enzymes and the expression of GLUT4 protein, however, administration of *Rhodiola sachalinensis* did not affect them. The effect of exercise and/or *Rhodiola sachalinensis* administration on the expression of SNARE proteins was unclear. Our study suggested that improvement insulin sensitivity by exercise and/or *Rhodiola sachalinensis* administration in obese Zucker rats is independent of expression of SNARE proteins. (*Korean J Nutrition* 39(4) : 323~330, 2006)

**KEY WORDS :** *Rhodiola sachalinensis*, exercise, obesity, insulin resistance, homa, skeletal muscle, glut4, snare protein, zucker rat.

### 서 론

최근 유병률이 크게 증가하고 있는 당뇨병 (Diabetes)은

인슐린의 절대적 또는 상대적 부족에 의해서 고혈당 상태 및 대사 장애가 만성적으로 지속되는 질환으로 다양한 신경장애와 소혈관계 질환, 신장병, 망막장애를 포함하는 미세혈관계의 합병증을 유발할 수 있는 위험인자를 가지고 있다.<sup>1)</sup> 인슐린 비의존형 (type II) 당뇨병은 일반적으로 말초조직의 인슐린 저항성 (insulin resistance)을 특징적으로 나타내며 대부분 비만이 이의 가장 큰 원인이 된다.<sup>2)</sup> 인슐린은 골격근이나 지방세포로의 글루코스 흡수 (glucose uptake)를 조절하여 글루코스 항상성 (glucose homeostasis)을 유지하도록 하는데 인슐린 저항성은 글루코스 수송체 (glu-

접수일 : 2006년 1월 12일

채택일 : 2006년 4월 28일

\*This work was supported by the Korea Research Foundation Grant funded by the Korean Government (MOEHRD) (KRF-2003-041-G00114).

<sup>§</sup>To whom correspondence should be addressed.

E-mail : ojks8688@hanmail.net

cose transporter, GLUT)와 인슐린 신호전달에 관여하는 단백질들의 인산화 과정 및 세포내 당대사의 장애 등으로 인해 발생하게 되는 것으로 알려져 있다.<sup>3,4)</sup>

글루코스 수송체는 다양한 조직에서 발현되며 이 중 GLUT4는 골격근, 지방세포와 심장근에 특이적으로 많이 분포하고 촉진적 글루코스 수송체 (facilitative glucose transport)에 의해 글루코스를 세포내로 운반하는 기능을 한다.<sup>5)</sup> GLUT4는 인슐린 자극과 근육축에 의해 민감하게 작용하는 것으로 알려져 있는데, 이와 같은 자극에 의한 GLUT4의 세포막으로의 전위 (translocation)는 soluble N-ethylmaleimide attachment protein receptor (SNARE) 단백질인 v-SNARE (VAMP2), t-SNARE (syntaxin4), SNAP23 등의 여러 가지 결합 단백질이 관여하는 소체-막 융합 (vesicle-membrane fusion) 과정으로 설명할 수 있다.<sup>6,7)</sup> 몇몇 선행연구에서<sup>8-10)</sup> 인슐린 저항성과 SNARE 단백질 발현 사이의 관련성에 대하여 보고를 하고 있지만 결과들이 일치하지 않고 아직까지 명확한 규명이 이뤄지지 못하고 있기 때문에 이 연구에서 비만 쥐를 대상으로 살펴보고자 하였으며, 또한 항비만 효과가 있는 것으로 알려지고 있는 홍경천 추출물의 섭취나 지구성 운동이 이들에 미치는 영향에 대해서 살펴보고자 하였다.

홍경천 (*Rhodiola sachalinensis* A. Bor.)은 고산지대에서 자라는 다년생 초본 식물로 돌나무과 (Crassulaceae)의 들꽃속 (*Rhodiola*)에 속하고 참돌꽃이라는 별칭을 갖고 있으며 뿌리와 줄기를 약용으로 사용한다.<sup>43,44)</sup> 민간에서는 진정제, 해열제, 수렴제로 쓰였으며 한의학에서는 강장약, 특히 노인성 심장쇠약, 음위 (陰痿)에 효과적이라고 알려져 있고 당뇨병, 폐결핵, 빈혈, 간 및 담낭질병에 가루약이나 탕제로 쓸 뿐 아니라 전신 및 육체피로, 신경쇠약, 산후 및 병후 허약, 건망증에 치료 약제로 사용되고 있다.<sup>45)</sup> 홍경천은 당뇨병에 대한 적응소 (adaptogenic agents)로서 혈당 조절의 효능을<sup>11-13)</sup> 가지고 있는 것으로 보고되고 있기 때문에 본 연구에서는 이러한 홍경천의 혈당조절 기능을 GLUT4 발현과 GLUT4 전위에 관여하는 SNARE 단백질 발현 측면에서 살펴보고자 하였다.

## 연구내용 및 방법

### 1. 실험동물 사육 및 골격근 적출

본 연구를 위해 7~8주령의 수컷 정상 Zucker rats (HadHlr: Zucker-lean, n = 10)과 유전자변형 비만 Zucker rats (HadHlr: Zucker-fa, n = 40, LN)을 Harlan사 (Indianapolis, U.S.A)로부터 공급받아 이용하였다. 2주일간의 적응

기를 거친 후 40마리의 비만 쥐들은 다시 무작위로 비만 대조군 (obese control rats, n = 10, OB), 운동군 (exercise-trained obese rats, n = 10, EXE), 홍경천 투여군 (Rho-treated obese rats, n = 10, Rho), 운동-홍경천 집단 (exercise & Rho-treated obese rats, n=10, Rho-EXE)으로 배정되었다. 모든 실험동물은 온도 ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) 및 상대 습도 ( $55 \pm 5\%$ )가 일정하게 유지되고, 12 : 12시간 light-dark cycle이 유지되는 동물 실험실에서 사육되었으며 섭취하는 고형사료 및 수분의 양은 제한하지 않았다. 실험에서 사용한 고형 사료의 주요 영양소 함유비율은 탄수화물 57.5% 지방 5%, 그리고 단백질 18% (Harlan, Co, U.S.A)이었으며, 모든 동물들의 체중은 주당 1회씩 측정하여 이상 유무를 확인하였다. 8주째 마지막 운동 후 48시간 지난 다음 sodium pentobarbital (60 mg/kg BW)을 복강에 주입시켜 마취시켰다. 대퇴동맥으로부터 혈액 (6 mL)을 채집하고, 가자미근 (soleus, SOL)과 장지신근 (extensor digitorum longus, EDL)을 적출해 즉시 액화 질소에 급속 냉동시킨 후 분석이 이뤄질 때까지  $-80^\circ\text{C}$ 에서 보관하였다. 실험과정 중 다섯 집단에서 각각 네 마리의 동물이 탈락 및 희생되어 최종적으로 집단별 6마리씩 남게 되었다.

### 2. 운동 프로그램

운동집단 (EXE, Rho-EXE)에 속한 실험동물들은 1주일 동안의 트레드밀 적응기간을 거친 후 최초, 경사도 8%, 속도 10 m/min에서 10 min/day 운동을 하도록 하였다. 4주에 걸쳐 경사도는 고정된 채 트레드밀 속도와 운동시간을 점진적으로 증가시켜 최종적으로 22 m/min, 90 min/day에 이르도록 하였고 이 후 4주 동안 이것을 유지하여 8주 동안의 트레드밀 운동을 마치도록 하였다.

### 3. 관액의 조제 및 투여

실험에 사용된 약제는 경희대학교 한의과대학에서 정선한 후 구입 사용하였고 처방은 中藥大辭典<sup>42)</sup>에 수록된 홍경천 처방에 준하였다. 홍경천 488 g을 증류수 3000 mL와 함께 round flask에 담고 냉각기를 부착한 전탕기에서 2시간 동안 전탕한 다음 1차 여과한 여과액을 rotatory evaporator로 감압농축한 후 완전 동결 건조시켜 건조 엑기스 68.3 g을 얻었다. 실험동물에 투여한 투여량은 30 mg/100 g BW로써 2 mL의 물에 녹여 1일 1회 경구투여 하였다.

### 4. 혈중 생화학 성분 분석

안정 시 채집된 혈액을 EDTA가 처리된 진공 채혈관에 옮기고 곧바로 원심분리 (3000 rpm, 15분)하여 혈장을 분리한 후 인슐린 및 지질성분들을 측정하는데 사용하였다.

인슐린 농도는 enzyme immunoassay ELISA 분석용 kit (Mercodia AB, Uppsala, Sweden)을 이용하여 분석하였으며 유리지방산 농도는 효소적 반응을 통한 비색법 (colorimetric method)을 이용한 NEFA C test kit (Wako, Japan)을 사용하여 분석하였다. 혈중 지질 (TC, TG)은 자동혈액분석기인 COBAS MIRA (Roche)를 사용하여 분석하였다.

**5. 미토콘드리아 산화 효소 활성도**

소량의 골격근 (10~12 mg)을 잘라낸 후 100배 부피의 완충용액 (0.175 M KCl; 2 mM EDTA)을 넣고 얼음 위에서 균질화시켰다. 균질액을 액화질소에 담겨 냉각시키고 다시 37°C에서 해동시키는 과정을 세 번 반복한 후 원심분리하고 깨끗한 상층을 얻어 효소활성도 (CS activity, β-HAD activity) 측정에 이용하였다. CS 활성도의 측정에는 CoASH가 5,5,-dithiobis-2-nitrobenzoate (DTNB)와의 반응을 통해 생성되는 색의 변화를 spectrophotometer (412 nm)를 이용해 관찰함으로써 얻어졌다.<sup>10)</sup> β-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (β-HAD)의 활성도는 S-acetoacetyl-CoA를 기질로 사용하여 NADH의 흡광도 변화를 spectrophotometer (340 nm)를 이용해 관찰함으로써 얻어졌다.<sup>11)</sup>

**6. Western blot**

모든 골격근의 균질액 (homogenates)을 단백질 정량 (BCA method, BioRad)한 후 총 단백질량 (50 μg)이 같도록 하여 sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE, 10~12% resolving gel; Bio-Rad Mini-Protein Electrophoresis System) 하였다.

전기영동 (120 V) 후 분리된 단백질들은 nitrocellulose membrane (Millipore, USA)으로 증착(Bio-Rad mini transfer blotting system: 120 V, 2 hr)되었고, 차례로 1, 2 차 항체 (anti-GLUT4, anti-SNAP23, anti-syntaxin4, anti-VAMP2, anti-goat, anti-rabbit; Santa Cruz Biotechnology, U.S.A)로 배양되었다. 이후 membrane은 enhanced chemiluminescence solution (ECL, Amersham Pharmacia Biotech) 처리 후 X-ray film에 감광되도록 하였다. 현상된 film을 스캔한 후 이미지분석 프로그램을 이용하여 정량하였다.

**7. 자료처리**

모든 데이터는 means ± SE으로 표시되었다. 변인들의 집단 간 차이를 알아보기 위해 one-way ANOVA를 실시하였고 유의성이 있는 경우 Duncan's multiple range test로 사후검증을 하였다. 통계적 유의성은 p < .05로 설정하였다.

**연구 결과**

**1. 체중변화, 식이섭취량 및 식이효율**

8주 후 집단 간에 체중변화에서 유의한 차이가 발견되었다. 비만 네 집단은 정상집단에 비해 체중이 모두 증가되었지만 그 중 운동수행과 홍경천 섭취를 단독 또는 복합적으로 실시한 세 집단 모두에서 비만 비교집단에 비해 유의하게 체중이 감소되었다. 복합적으로 실시한 집단에서 가장 많이 체중이 감소되었고 운동집단, 홍경천 섭취집단 순으로 체중이 감소되었다 (Table 1). Table 1에 나타난 자

**Table 1.** Changes of body weight, food intake, and food efficiency ratio among groups

	LN (n = 6)	OB (n = 6)	EXE (n = 6)	Rho (n = 6)	Rho-EXE (n = 6)
Initial body weight (g)***	280.1 ± 3.7 <sup>b</sup>	338.4 ± 8.1 <sup>c</sup>	339.1 ± 6.6 <sup>c</sup>	342.1 ± 3.7 <sup>a</sup>	343.4 ± 4.1 <sup>c</sup>
Final body weight (g)***	369.5 ± 10.5 <sup>d</sup>	624.5 ± 9.7 <sup>c</sup>	550.7 ± 18.0 <sup>c</sup>	588.0 ± 9.4 <sup>b</sup>	523.2 ± 7.5 <sup>c</sup>
Food intake (g)***	1023.1 ± 25.5 <sup>c</sup>	1602.2 ± 33.1 <sup>a</sup>	1438.5 ± 27.4 <sup>b</sup>	1497 ± 31.5 <sup>ab</sup>	1423 ± 29.7 <sup>c</sup>
FER***	0.09 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.18 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.15 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.16 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.13 ± 0.02 <sup>b</sup>

Mean ± SE. \*\*\*: p < .001 of the ANOVA test. The values with different superscripts in the same row are significantly different by Duncan's multiple range test. FER: (body weight gain, g)/(food intake, g).

**Table 2.** Blood insulin, HOMA, and metabolites among groups

	LN (n = 6)	OB (n = 6)	EXE (n = 6)	Rho (n = 6)	Rho-EXE (n = 6)
Glucose (mmol/L) NS	4.27 ± 0.18	5.12 ± 0.33	4.30 ± 0.19	4.53 ± 0.20	4.45 ± 0.30
Insulin (pmol/L)***	7.56 ± 0.55 <sup>c</sup>	103.64 ± 9.96 <sup>a</sup>	66.20 ± 10.27 <sup>b</sup>	65.0 ± 8.98 <sup>b</sup>	65.55 ± 7.84 <sup>b</sup>
HOMA***	1.43 ± 0.10 <sup>c</sup>	23.96 ± 3.46 <sup>a</sup>	12.87 ± 2.36 <sup>b</sup>	13.14 ± 2.39 <sup>b</sup>	13.32 ± 2.13 <sup>b</sup>
TC (mg/dL)***	86.50 ± 6.20 <sup>c</sup>	179.83 ± 3.13 <sup>a</sup>	129.83 ± 9.48 <sup>b</sup>	164.67 ± 12.54 <sup>b</sup>	153.00 ± 10.21 <sup>ab</sup>
TG (mg/dL)***	52.75 ± 4.17 <sup>c</sup>	600.50 ± 52.77 <sup>a</sup>	298.67 ± 29.63 <sup>b</sup>	343.83 ± 25.81 <sup>b</sup>	278.83 ± 38.42 <sup>b</sup>
FFA (mmol/L)***	1.04 ± 0.12 <sup>b</sup>	1.86 ± 0.19 <sup>a</sup>	1.29 ± 0.07 <sup>b</sup>	1.31 ± 0.10 <sup>b</sup>	1.11 ± 0.05 <sup>b</sup>

Mean ± SE. \*\*\*: p < .001 of the ANOVA test. NS: not statistically significant at a = 0.05. The values with different superscripts in the same row are significantly different by Duncan's multiple range test.

료에 의하면 이와 같은 체중 감소는 운동수행과 홍경천섭취에 따른 식이섭취량 감소와 식이효율의 감소에 기인한 것으로 나타났으며, 홍경천섭취와 운동수행을 단독으로 하였을 때보다 병행하였을 때 효과가 유의하게 증가된 것으로 나타났다.

## 2. 혈중 인슐린과 대사 기질 및 인슐린 민감도

Table 2에서 보는 바와 같이 혈중 글루코스를 제외한 안정 시 혈중 인슐린 및 대사 기질 수준에서 집단 간 차이가 나타났다. 인슐린은 정상집단에 비해 비만 네 집단 모두에서 유의하게 높게 나타났지만 운동수행과 홍경천 섭취가 이를 낮추는 효과를 나타내었다. 혈당과 혈중 인슐린의 곱으로 얻어지는 homeostasis model assesment (HOMA)는 인슐린 저항성을 나타내는데 비만 네 집단이 정상집단에 비해 HOMA 수치가 유의하게 높았지만 운동수행과 홍경천 섭취를 단독 또는 병행한 경우 유의하게 감소되는 것으로 나타났다. 하지만 혈중 인슐린과 HOMA 수준에서 운동수행과 홍경천 섭취의 단독적인 차이는 나타나지 않았다.

혈중 지질 성분은 비만 네 집단 간에 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. TC는 운동집단에서 가장 낮은 것으로 나타났고 TG와 FFA는 운동수행과 홍경천 섭취를 병행한 집단에서 가장 낮은 것으로 나타났다.

## 3. 미토콘드리아 산화 효소 활성도

미토콘드리아 효소인 CS와  $\beta$ -HAD 활성도는 정상집단에 비해 비만 비교집단 (OB)에서 모두 증가되는 경향을 보였고 특히 장지신근에서 유의한 증가가 관찰되었다. 지구성

운동을 수행한 운동집단 (RHo, Rho-EXE)의 CS와  $\beta$ -HAD 활성도는 비만 비교집단 (OB)에 비해 가자미근에서 유의하게 증가되었고 장지신근에서는 유의하게 감소되는 것으로 나타났다. 홍경천만을 섭취한 집단은 비만 비교집단과 별다른 차이를 보이지 않았다 (Table 3).

## 4. GLUT4와 SNARE 단백질 발현

GLUT4 단백질 발현에 있어서는 지구성 운동 수행이 GLUT4 단백질 발현을 유의하게 증가시키는 것으로 나타났다. 가자미근에서는 운동집단 (EXE, Rho-EXE) 모두에서 비만 비교집단에 비해 GLUT4 단백질 발현이 증가하였고 장지신근에서는 운동수행과 홍경천 섭취를 함께한 집단에서만 GLUT4 단백질 발현이 증가하였다. 홍경천만을 섭취한 집단에서는 GLUT4 단백질 발현이 증가되는 경향은 보였으나 통계적 유의성은 없었다 (Table 4, Fig. 1).

VAMP2 단백질 발현은 Table 4, Fig. 1에서 보는 바와 같이 두 골격근 모두에서 다섯 집단 간에 차이가 없는 것으로 나타났다. 지구성 운동 수행과 홍경천 섭취가 적근인 가자미근에서 VAMP2 단백질 발현을 다소 증가시키는 경향을 보임에도 불구하고 통계적인 유의성은 없었다.

한편, syntaxin4 단백질 발현은 가자미근에서 운동과 홍경천 섭취를 복합적으로 수행한 집단에서 유의하게 증가되었지만 운동수행이나 홍경천 섭취가 단독적으로 영향을 주지 못한 것으로 나타났다. 장지신근에서도 유사한 경향을 보이지만 통계적 유의성은 없었다. SNAP23 단백질인 경우, 가자미근에서 운동수행 후 발현이 유의하게 증가한 것을

**Table 3.** Citrate synthase and  $\beta$ -hydroxyacyl-CoA dehydrogenase activity

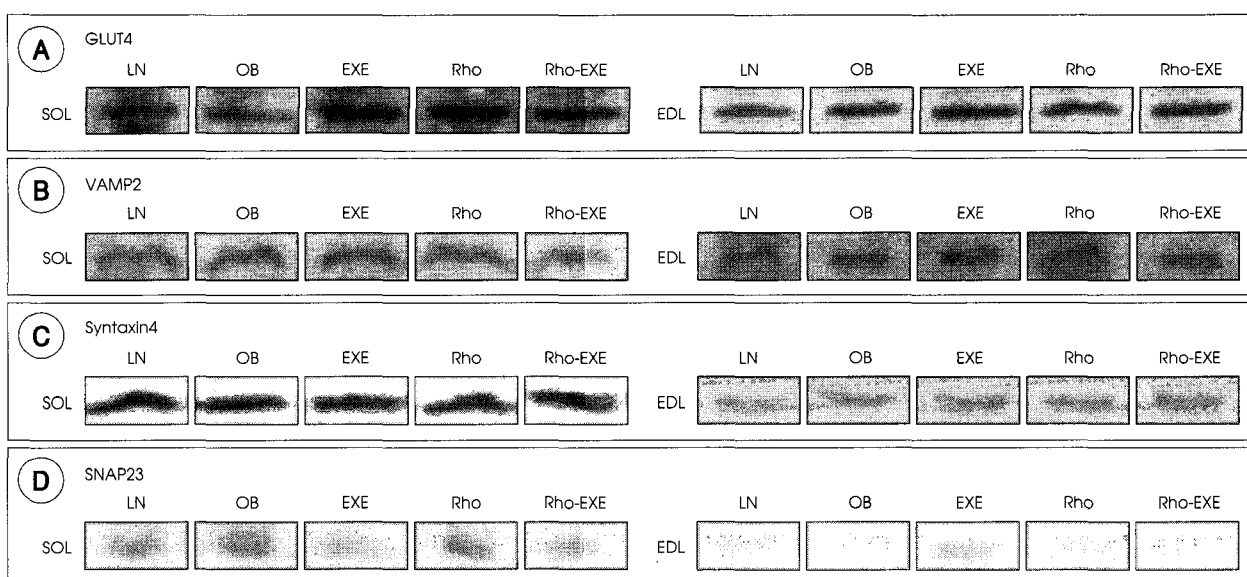
	Tissue	LN (n = 6)	OB (n = 6)	EXE (n = 6)	Rho (n = 6)	Rho-EXE (n = 6)
CS ( $\mu$ mol/min/g)	SOL***	29.55 $\pm$ 1.75 <sup>c</sup>	34.64 $\pm$ 1.75 <sup>c</sup>	51.42 $\pm$ 4.53 <sup>b</sup>	33.38 $\pm$ 1.97 <sup>c</sup>	62.35 $\pm$ 1.86 <sup>c</sup>
	EDL***	36.15 $\pm$ 1.27 <sup>c</sup>	43.28 $\pm$ 0.78 <sup>b</sup>	36.62 $\pm$ 1.25 <sup>c</sup>	49.78 $\pm$ 2.13 <sup>b</sup>	35.97 $\pm$ 1.68 <sup>c</sup>
$\beta$ -HAD ( $\mu$ mol/min/g)	SOL***	8.68 $\pm$ 0.37 <sup>c</sup>	10.76 $\pm$ 0.54 <sup>b</sup>	14.69 $\pm$ 0.46 <sup>b</sup>	10.69 $\pm$ 0.64 <sup>b</sup>	15.60 $\pm$ 0.34 <sup>b</sup>
	EDL***	4.90 $\pm$ 0.20 <sup>c</sup>	8.42 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	6.08 $\pm$ 0.25 <sup>b</sup>	8.71 $\pm$ 0.54 <sup>b</sup>	6.95 $\pm$ 0.44 <sup>b</sup>

Mean  $\pm$  SE. \*\*\*:  $p < .001$  of the ANOVA test. The values with different superscripts in the same row are significantly different by Duncan's multiple range test.

**Table 4.** Expression of GLUT4 and SNARE proteins (arbitrary densitometry unit)

	Tissue	LN (n = 6)	OB (n = 6)	EXE (n = 6)	Rho (n = 6)	Rho-EXE (n = 6)
GLUT4	SOL**	7.04 $\pm$ 1.05 <sup>b</sup>	7.12 $\pm$ 1.37 <sup>b</sup>	13.42 $\pm$ 0.66 <sup>a</sup>	11.60 $\pm$ 1.13 <sup>a</sup>	15.44 $\pm$ 1.54 <sup>a</sup>
	EDL*	6.23 $\pm$ 0.77 <sup>b</sup>	6.19 $\pm$ 0.69 <sup>b</sup>	8.07 $\pm$ 1.43 <sup>b</sup>	7.73 $\pm$ 0.66 <sup>b</sup>	11.07 $\pm$ 0.86 <sup>a</sup>
VAMP2	SOL <sup>NS</sup>	6.23 $\pm$ 0.45	6.48 $\pm$ 1.14	6.77 $\pm$ 0.67	7.64 $\pm$ 1.35	8.24 $\pm$ 1.04
	EDL <sup>NS</sup>	2.84 $\pm$ 0.12	2.12 $\pm$ 0.11	2.62 $\pm$ 0.49	2.62 $\pm$ 0.71	3.05 $\pm$ 0.47
Syntaxin4	SOL*	21.58 $\pm$ 1.17 <sup>ab</sup>	15.74 $\pm$ 1.46 <sup>b</sup>	21.12 $\pm$ 1.70 <sup>ab</sup>	20.26 $\pm$ 1.54 <sup>ab</sup>	25.24 $\pm$ 3.25 <sup>a</sup>
	EDL <sup>NS</sup>	2.23 $\pm$ 0.16 <sup>ab</sup>	2.07 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>	2.23 $\pm$ 0.15 <sup>ab</sup>	2.37 $\pm$ 0.25 <sup>ab</sup>	2.88 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup>
SNAP23	SOL**	9.38 $\pm$ 0.76 <sup>b</sup>	8.47 $\pm$ 0.64 <sup>b</sup>	13.53 $\pm$ 1.12 <sup>a</sup>	7.58 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	10.09 $\pm$ 1.05 <sup>b</sup>
	EDL <sup>NS</sup>	6.26 $\pm$ 1.25	5.42 $\pm$ 0.04	5.96 $\pm$ 0.51	5.60 $\pm$ 0.83	5.84 $\pm$ 0.36

Mean  $\pm$  SE. \*:  $p < .05$ , \*\*:  $p < .01$  of the ANOVA test. NS: not statistically significant at  $\alpha = 0.05$ . The values with different superscripts in the same row are significantly different by Duncan's multiple range test.



**Fig. 1.** Western blot showing the expression of GLUT4 (A), VAMP2 (B), Syntaxin4 (C), and SNAP23 (D) in soleus (SOL) and extensor digitorum longus (EDL) of five groups. LN: lean control rats, OB: obese control rats, EXE: exercise-trained obese rats, Rho: Rho-treated obese rats, Rho-EXE: exercise & Rho-treated obese rats.

제외하고 별다른 변화가 발견되지 않았다 (Table 4, Fig. 1).

### 고찰 및 결론

이 연구 결과 홍경천 섭취와 운동을 수행하는 것은 혈중 중성지방과 유리지방산을 유의하게 감소시켜 지질 개선의 효과가 있는 것으로 나타났다. 규칙적인 운동으로 혈중 지질이 개선되는 것은 잘 알려진 사실이지만 홍경천의 이러한 효과는 흥미로운 발견이라 할 수 있겠다. 비만하게 되면 체내 과도하게 축적된 지방조직뿐만 아니라 골격근에서의 지방산 유리가 많아져 혈중 지방산 농도가 높아지게 되는데<sup>14,15)</sup> 이것은 인슐린 저항성과 밀접한 관련이 있는 것으로 보고되고 있기 때문에<sup>16-18)</sup> 혈중 지질이나 체지방을 감소시키는 것은 인슐린 저항성 개선을 위해 필요하다. 운동수행과 홍경천 섭취를 단독 또는 병행한 집단에서 체중 감소를 비롯하여 혈중 지질이 개선되는 현상은 운동중재뿐만 아니라 홍경천이 인슐린 저항성을 감소시킬 수 있는 한 작용을 나타낸 것이라 생각된다.

연구 결과, 운동수행과 홍경천 섭취를 단독 또는 병행한 집단에서 인슐린 민감도 또한 유의하게 증가된 것으로 나타났다. 이 실험에서는 인슐린 민감도를 알아보는 방법으로 HOMA를 이용하였다. 다섯 집단의 공복 시 글루코스 농도에서 집단 간 차이는 없었지만 공복 시 혈중 인슐린 농도는 집단 간에 유의한 차이를 나타내었고, 그 결과 HOMA에서도 집단 간 유의한 차이를 나타내게 되었다. 비만 비교집단에서 급격하게 증가된 HOMA 수치는 운동수행과 홍

경천 섭취 후 유의하게 감소되었는데 이러한 연구결과는 운동 중재뿐만 아니라 홍경천 섭취도 인슐린 민감도를 높일 수 있는 약물임을 확인시켜주는 것이라 사료된다.

이 연구에서는 효소활성도 및 단백질 발현을 두 골격근 타입 (가자미근, 장지신근)에서 관찰하였다. 가자미근 (84% type I fibers)<sup>19)</sup>은 대표적인 지근 섬유 (oxidative muscle fiber)로써 미토콘드리아와 산화 효소가 많아 산화적 인산화 반응이 활발하고 인슐린에 민감한 골격근 타입인 것에 반해, 장지신근 (38% type II d/x and 38% type II b fibers)<sup>19)</sup>은 속근 (glycolytic muscle fiber)으로서 무산소적인 에너지 체계에 관여하는 효소가 많아 강도 높은 운동 시 동원되는 골격근 타입으로 알려져 있다. 이 연구에서는 비만이 골격근의 인슐린 저항성과 밀접한 관련이 있기 때문에 두 골격근 타입 중에서 인슐린에 민감한 지근섬유에서의 변화가 유의할 것이라는 추측을 하였다. 일반적으로 지구성 운동이 골격근의 산화적 능력과 미토콘드리아 밀도를 높이는 것으로 알려져 있는데 이 연구결과 운동집단의 CS와  $\beta$ -HAD 활성도가 가자미근에서는 모두 유의하게 증가되어 선행연구들<sup>20-22)</sup>과 일치하였지만 장지신근에서는 이들의 활성도가 감소되는 결과가 나타났다. 미토콘드리아내 산화 효소 활성도가 지근섬유인 가자미근에서는 지구성 운동에 의해 향상되었지만 속근섬유인 장지신근에서는 유의하게 감소하였다는 것인데 이러한 결과에 대한 기전적인 설명은 어렵지만 지구성 운동이 지근의 근섬유 조성 비율을 높이게 되고 지근에서의 산화적 효소 활성도가 현저히 증가되기 때문에 속근에서의 역할이 감소되었을 것이라 추측하며 앞으로

이에 관한 추가적인 연구가 필요할 것이라 사료된다. 한편, 홍경천 섭취는 미토콘드리아 효소 활성도에 유의한 영향을 주지 못한 것으로 나타났다. 이는 홍경천 섭취가 골격근 미토콘드리아의 활성화를 통한 에너지연소 촉진 효과를 나타내기 보다는 다른 대사 경로를 통한 체중/체지방 감소에 영향을 미치는 것으로 생각된다.

이 연구 결과에서, 규칙적인 운동 수행이 골격근내 GLUT4 단백질을 증가시키는 것으로 나타났고 홍경천 섭취를 함께 한 집단에서 더욱 유의하게 증가되는 것이 관찰되었다. 비만 비교집단의 GLUT4는 두 골격근 타입 모두에서 정상 집단과 유사한 것으로 나타났다. 이것은 정상인과 비만인, 제2형 당뇨병자에 있어서 골격근의 GLUT4 수준에서 유의한 차이가 없었다는 연구들<sup>23,24)</sup>과는 일치하였지만 비만에서 골격근내 GLUT4가 감소하였다는 연구보고와는 상반되었다. 한편, 운동에 의해 GLUT4가 유의하게 증가한 것은 Gan 등<sup>25)</sup>과 Goodpaster 등<sup>26)</sup>의 결과와 일치하였다. 규칙적인 운동 수행에 의해 골격근에서 인슐린 저항성이 향상됨이 많은 연구에서 보고되었다.<sup>27-30)</sup> 이와 같은 현상에 대해 몇 가지 기전 (mechanism)적인 이론이 제시 되었는데 그 중에는 글루코스 수송체인 GLUT4의 단백질의 증가에 기인한다는 설명이 주로 받아들여지고 있다.<sup>27,28)</sup> 즉, 골격근내 증가된 GLUT4가 저하된 인슐린 신호체계를 보상하여 글루코스의 세포내로의 수송을 향상시킨다는 것이다.<sup>31)</sup> 이것은 인슐린 저항성을 극복하는데 GLUT4 단백질 증가가 필요함을 말해주는 것으로서 이 연구결과와 일치하였다.

한편, GLUT4와는 달리 운동수행과 홍경천 섭취가 SNARE 단백질 발현에 미친 영향은 불분명한 것으로 나타났다. GLUT4는 안정시와 공복시에는 세포내에 주로 존재하나 인슐린 분비 혹은 근수축 자극에 의해 빠르게 세포막 표면으로 이동되어 혈중 글루코스를 흡수함으로써 글루코스 항상성을 유지하도록 하는데 세포내에서 세포막으로의 GLUT4 전위에는 부분적으로 SNARE 단백질들이 관여를 하는 것으로 보고되고 있고<sup>32-34)</sup> GLUT4 전위의 감소는 인슐린 저항성과 관련이 있는 것으로 보고되고 있기 때문에<sup>35-37)</sup> 이 연구에서는 정상집단과 비만집단에서의 SNARE 단백질 발현을 비교해 보고 홍경천 섭취와 규칙적인 운동이 이들에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다. 이 연구 결과에 의하면 GLUT4 단백질 발현과 마찬가지로 비만 비교집단의 세포질내 SNARE 단백질 발현은 정상집단과 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다. 이는 GLUT4 전위와 관련된 인슐린 저항성이 GLUT4나 SNARE 단백질들의 전체적 양적인 부분과는 별다른 관련이 없다는 것을 말해주는 것이라 할 수 있겠다. 그럼에도 불구하고 운동 또는 운동과 홍경천 섭취

를 병행한 집단의 SNARE 단백질 수준은 비만 비교집단에 비해 부분적으로 유의하게 증가되는 것이 발견되었다. 지구성 운동과 홍경천 섭취를 함께한 집단에서 syntaxin4 발현이 유의하게 증가하였고 운동수행집단에서 SNAP23 발현이 유의하게 증가된 것으로 나타났다. 하지만 이러한 변화는 지근섬유에서만 발견되었고 더욱이 일관된 변화양상이 나타나지 않아서 운동수행과 홍경천 섭취가 SNARE 단백질 발현에 미치는 영향은 불분명해 보이며, 따라서 인슐린 민감도 개선과 SNARE 단백질의 양적 변화 사이의 상관성은 없는 것으로 사료된다.

한편, 세포질내 총 단백질 발현을 살펴본 이 연구와는 달리 세포막 수준에서 이들의 발현을 관찰한 연구들은 상반되는 결과를 보고 하였다. Maier 등<sup>3)</sup>은 인슐린 저항성이 있는 비만 당뇨 Zucker rats을 대상으로 살펴본 연구에서 정상 집단에 비해 비만집단의 골격근 세포막내 GLUT4 수준은 유사하지만 SNARE 단백질인 VAMP2와 syntaxin4가 유의하게 증가되어 있고 rosiglitazone에 의해 혈당 조절이 될 때 VAMP2와 syntaxin4가 감소한다고 하였고 James 등<sup>38)</sup> 또한 인슐린 저항성이 있는 고혈압 쥐 (stroke-prone spontaneously hypertensive rats)를 대상으로 살펴본 연구에서 비교집단에 비해 골격근내 VAMP2와 syntaxin4가 유의하게 증가되어 있다고 보고하였다. 반면 김 등<sup>10)</sup>은 비만 Zucker rat을 대상으로 운동과 카테킨 섭취를 실시한 후 세포막의 VAMP2와 syntaxin4를 살펴본 연구에서 비만집단에 비해 운동과 카테킨 섭취가 단독 또는 복합적으로 오히려 VAMP2와 syntaxin4를 증가시키며 혈당을 조절한다는 상반된 결과를 보고하였다. 이 연구에서는 세포막 수준에서의 단백질 발현을 확인하지 못했기 때문에 이들의 연구와 명확하게 비교할 수 없으나 GLUT4 전위 결함과 관련된 인슐린 저항성은 세포내 GLUT4와 SNARE 단백질의 전체 양과는 상관이 없는 것으로 나타났다. 그럼에도 불구하고 지구성 운동 수행 후 인슐린 저항성이 감소될 때 이들 단백질들의 전체 양은 부분적으로 증가하는 것으로 관찰되었다. 앞으로의 연구에서는 총 단백질 수준과 세포막 수준에서의 GLUT4와 SNARE 단백질뿐만 아니라 소체-막 융합에 관여하는 보조 단백질들 (Rabs, Munc18, synip, VAP-33, pantophysin, etc)을 비롯해 세포내에서 GLUT4 전위에 관여하는 세포골격 (cytoskeleton) 단백질들의 작용까지 확인되어야 세포내 GLUT4 전위에 관한 기전과 비만에서의 문제점을 확인할 수 있을 것이라 사료된다. 인슐린 자극에 의해 GLUT4 전위와 세포막에서의 소체-막 융합이 일어나는 것은 잘 알려진 사실이지만 아직까지 기전 자체는 불분명하며 반응 경로에 관여하는 보조인자들<sup>6)</sup>과 액틴 같은 세포골격에 의한

글루코스 소체 이동<sup>38,39)</sup>에 대해 보고되고 있기 때문이다.

이 연구 결과에 의하면 운동수행과 홍경천 섭취를 단독 또는 병행하였을 경우 비만 쥐의 체중과 혈중 지질이 개선되고 인슐린 민감도가 증가되어 항비만의 효과가 있는 것으로 나타났다. 지구성 운동 수행 시 미토콘드리아 효소 활성도와 GLUT4 단백질 발현이 증가된 반면 홍경천 섭취 자체는 이들에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 또한, GLUT4와 SNARE 단백질의 양적인 변화와 인슐린 민감도와와의 상관성은 절대적이지 않은 것으로 보여 진다.

Literature cited

- 1) Diabetes, 2nd revision, pp.239, 233-234, 335-343, Korean Diabetes Association, Seoul, 1998
- 2) Lee BY. Physiology, 6th revision, pp.93-94, 330-331, Shinkwang publisher, Seoul, 2000
- 3) Douen AG, Ramlal T, Klip A, Young DA, Cartee GD, Holloszy JO. Exercise-induced increase in glucose transporters in plasma membranes of rat skeletal muscle. *Endocrinology* 124(1) : 449-454, 1989.
- 4) Hirshman MF, Goodyear LJ, Wardzala LJ, Horton ED, Horton ES. Identification of an intracellular pool of glucose transporters from basal and insulin-stimulated rat skeletal muscle. *J Biol Chem* 265(2) : 987-991, 1990
- 5) Dugaard JR, Richter EA. Relationship between muscle fibre composition, glucose transporter protein 4 and exercise training: possible consequences in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Acta Physiol Scand* 171(3) : 267-276, 2001
- 6) Foster LJ, Klip A. Mechanism and regulation of GLUT-4 vesicle fusion in muscle and fat cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 279(4) : C877-890, 2000
- 7) Malhotra V, Orcl L, Glick BS, Block MR, Rothman JE. Role of N-ethylmaleimide -sensitive transport component in promoting fusion of transport vesicles with cisternae of the Golgi stack. *Cell* 54:221-227, 1988
- 8) James DJ, Cairns F, Salt IP, Murphy GJ, Dominiczak AF, Connell JM, Gould GW. Skeletal muscle of stroke-prone spontaneously hypertensive rats exhibits reduced insulin-stimulated glucose transport and elevated levels of caveolin and flotillin. *Diabetes* 50(9) : 2148-2156, 2001
- 9) Maier VH, Melvin DR, Lister CA, Chapman H, Gould GW, Murphy GJ. v- and t-SNARE protein expression in models of insulin resistance: normalization of glycemia by rosiglitazone treatment corrects overexpression of cellubrevin, vesicle-associated membrane protein-2, and syntaxin 4 in skeletal muscle of Zucker diabetic fatty rats. *Diabetes* 49(4) : 618-625, 2000
- 10) 김철현, 임예현, 조인호, 김성찬, 방상식, 조준용, 이규성. 카테킨 섭취와 운동수행에 따른 obese zucker rat 골격근의 GLUT-4, VAMP-2와 Syntaxin-4 단백질 발현의 변화. *운동과학* 12(4) : 663-678, 2003
- 11) Chem X, Di L, Wu Y, Liu X, Ren Q. Hypoglycemic effect of Rhodiola sachalinensis A. Bor. polysaccharides: comparison of administration in different ways. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 21(11) : 685-687, 1996
- 12) Cheng XJ, Di L, Wu Y, Zhao QC, Du GZ, Liu YQ. Studies on the hypoglycemic effect of Rhodiola sachalinensis A. Bor. polysaccharides. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 18(9) : 557-559, 575, 1993
- 13) Molokovskii DS, Davydov VV, Tiulenev VV. The action of adaptogenic plant preparations in experimental alloxan diabetes. *Probl Endokrinol (Mosk)* 35(6) : 82-87, 1989
- 14) Bray GA. The Zucker-fatty rat: a review. *Fed Proc* 36(2) : 148-153, 1977
- 15) Zucker LM. Fat mobilization in vitro and in vivo in the genetically obese Zucker rat "fatty". *J Lipid Res* 13(2) : 234-243, 1972
- 16) Krssak M, Falk Petersen K, Dresner A, DiPietro L, Vogel SM, Rothman DL, Roden M, Shulman GI. Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a 1H NMR spectroscopy study. *Diabetologia* 42(1) : 113-116, 1999
- 17) Pan DA, Lillioja S, Kriketos AD, Milner MR, Baur LA, Bogardus C, Jenkins AB, Storlien LH. Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. *Diabetes* 46(6) : 983-988, 1997
- 18) Perseghin G, Scifo P, De Cobelli F, Pagliato E, Battezzati A, Arcelloni C, Vanzulli A, Testolin G, Pozza G, Del Maschio A, Luzi L. Intramyocellular triglyceride content is a determinant of in vivo insulin resistance in humans: a 1H-13C nuclear magnetic resonance spectroscopy assessment in offspring of type 2 diabetic parents. *Diabetes* 48(8) : 1600-1606, 1999
- 19) Delp MD, Duan C. Composition and size of type I, IIA, IID/X, and IIB fibers and citrate synthase activity of rat muscle. *J Appl Physiol* 80(1) : 261-270, 1996
- 20) Leek BT, Mudaliar SR, Henry R, Mathieu-Costello O, Richardson RS. Effect of acute exercise on citrate synthase activity in untrained and trained human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 280(2) : R441-447, 2001
- 21) Zonderland ML, Bar PR, Reijneveld JC, Spruijt BM, Keizer HA, Glatz JF. Different metabolic adaptation of heart and skeletal muscles to moderate-intensity treadmill training in the rat. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 79(5) : 391-396, 1999
- 22) Bruce CR, Kriketos AD, Cooney GJ, Hawley JA. Disassociation of muscle triglyceride content and insulin sensitivity after exercise training in patients with Type 2 diabetes. *Diabetologia* 47(1) : 23-30, 2004
- 23) Dela F, Ploug T, Handberg A, Petersen LN, Larsen JJ, Mikines, KJ, Galbo H. Physical training increases muscle GLUT4 protein and mRNA in patients with NIDDM. *Diabetes* 43(7) : 862-865, 1994
- 24) Pedersen O, Bak JF, Andersen PH, Lund S, Moller DE, Flier JS, Kahn BB. Evidence against altered expression of GLUT1 or GLUT4 in skeletal muscle of patients with obesity or NIDDM. *Diabetes* 39(7) : 865-870, 1990.
- 25) Gan SK, Kriketos AD, Ellis BA, Thompson CH, Kraegen EW, Chisholm DJ. Changes in aerobic capacity and visceral fat but not myocyte lipid levels predict increased insulin action after exercise in overweight and obese men. *Diabetes Care* 26(6) : 1706-1713, 2003
- 26) Goodpaster BH, Katsiarasm A, Kelley DE. Enhanced fat oxidation

- tion through physical activity is associated with improvements in insulin sensitivity in obesity. *Diabetes* 52(9): 2191-2197, 2003
- 27) Banks EA, Brozinick JT Jr, Yaspelkis BB 3rd, Kang HY, Ivy JL. Muscle glucose transport, GLUT-4 content, and degree of exercise training in obese Zucker rats. *Am J Physiol* 263: E1010-1015, 1992
  - 28) Brozinick JT Jr, Etgen GJ Jr, Yaspelkis BB 3rd, Kang HY, Ivy JL. Effects of exercise training on muscle GLUT-4 protein content and translocation in obese Zucker rats. *Am J Physiol* 265: E419-427, 1993
  - 29) Ivy JL, Sherman WM, Cutler CL, Katz AL. Exercise and diet reduce muscle insulin resistance in obese Zucker rat. *Am J Physiol* 251(3): E299-305, 1986
  - 30) Ivy JL, Brozinick JT Jr, Torgan CE, Castello GM. Skeletal muscle glucose transport in obese Zucker rats after exercise training. *J Appl Physiol* 66(6): 2635-2641, 1989
  - 31) Ivy JL. Muscle insulin resistance amended with exercise training: role of GLUT4 expression. *Med Sci Sports Exerc* 36(7): 1207-1211, 2004
  - 32) Rothman JE. Mechanisms of intracellular protein transport. *Nature* 372(6501): 55-63, 1994
  - 33) Sollner T, Whiteheart SW, Brunner M, Erdjument-Bromage H, Geromanos S, Tempst P, Rothman JE. SNAP receptors implicated in vesicle targeting and fusion. *Nature* 362(6418): 318-324, 1993
  - 34) Sudhof TC, De Camilli P, Niemann H, Jahn R.. Membrane fusion machinery: insights from synaptic proteins. *Cell* 75(1): 1-4, 1993
  - 35) King PA, Horton ED, Hirshman MF, Horton ES. Insulin resistance in obese Zucker rat (fa/fa) skeletal muscle is associated with a failure of glucose transporter translocation. *J Clin Invest* 90(4): 1568-1575, 1992
  - 36) Garvey WT, Maianu L, Zhu JH, Brechtel-Hook G, Wallace P, Baron AD. Evidence for defects in the trafficking and translocation of GLUT4 glucose transporters in skeletal muscle as a cause of human insulin resistance. *J Clin Invest* 101(11): 2377-2386, 1998
  - 37) Perez-Martin A, Raynaud E, Mercier J. Insulin resistance and associated metabolic abnormalities in muscle: effects of exercise. *Obes Rev* 2(1): 47-59, 2001
  - 38) Omata W, Shibata H, Li L, Takata K, Kojima I. Actin filaments play a critical role in insulin-induced exocytotic recruitment but not in endocytosis of GLUT4 in isolated rat adipocytes. *Biochem J* 346(2): 321-328, 2000
  - 39) Valentijn JA, Valentijn K, Pastore LM, Jamieson JD. Actin coating of secretory granules during regulated exocytosis correlates with the release of rab3D. *Proc Natl Acad Sci USA* 97(3): 1091-1095, 2000
  - 40) Srere PA. Citrate synthase. *Methods Enzymol* 13: 3-11, 1969
  - 41) Bass A, Brdiczka DS, Pette D. Metabolic differentiation of distinct muscle types at the level of enzymatic organization. *Eur J Biochem* 10: 198-206, 1969
  - 42) 中藥大辭典. pp.107-111, 上海人民出版社, 1975
  - 43) Chung TH. Korean Flora (Herb part). pp.283, 1974
  - 44) Lee YN. Flora of Korea. pp.277, Kyohak, Seoul, 1997
  - 45) Lee YA, Cho SM, Lee MW. Flavonoids from the roots of *Rhodiola sachalinensis*. *Kor J Pharmacogn* 33(2): 116-119, 2002